Phosphor-Resorptionsbestimmungen beim Wiederkäuer mit Hilfe der Isotopenverdünnungsmethode

Gerhard Ruß

1965

Aus dem Institut für Tierphysiologie der Universität München
Vorstand: Professor Dr. Dr. Dr. h. c. Johannes Brüggemann

Phosphor-Resorptionsbestimmungen beim Wiederkäuer mit Hilfe der Isotopenverdünnungsmethode

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung der veterinär-medizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von

Gerhard Ruß
aus Ingolstadt/Do.

München 1967

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. A. Herrlich
Referent: Professor Dr.Dr.Dr. J. Brüggemann

Tag der Promotion: 28.7.1967

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Druck: UNI-DRUCK, München 13

Meinem Vater in Dankbarkeit gewidmet

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546019_0096

Inhaltsverzeichnis

	Seite
EINLEITUNG	1
LITERATUR	
I. Ältere Bestimmungsverfahren für die P-Resorption	
a. Einfache Phosphorbilanzversuche	3
b. Indikator-Verfahren nach Bergein zum Nachweis von in den Darmtrakt sekretiertem Stoffwechselphosphor	5
c. Untersuchungen zur quantitativen Bestimmung des endogenen Kotphosphors	7
d. Untersuchungen über die Phosphorresorption durch sekundäre Kriterien	8
II. Versuche zur P-Resorptionsbestimmung mit Hilfe von radioaktivem Phosphor	10
1. Versuche mit oraler P^{32}-Applikation	11
2. Versuche mit parenteraler P^{32}-Applikation	14
III. Die P-Resorptionsbestimmung bei Vergleich der Isotopenverdünnungsmethode mit der "komparativen Bilanz"	23
EIGENE VERSUCHE	
1. Versuchsprinzip	27
2. Versuchstiere, Grundfutterzusammenstellung und zu untersuchende Verbindungen	28
3. Versuchsdurchführung	31
4. Aufarbeitung und Analytik der Proben	
a. Blut	31
b. Harn	32
c. Kot	32
cc. Vorversuche zur Kotveraschung	33
d. chemisch-physikalische Phosphorbestimmung	34
dd. Ermittlung der Regressionskoeffizienten zur colorimetrischen P-Bestimmung	35
e. Messung der Radioaktivität	35
ee. Ermittlung der P^{32}-Meßausbeute bei Aktivitätsbestimmungen aus der Kot-Trockensubstanz	36
f. Bestimmung der Maxima der spezifischen Aktivitäten in Blut, Harn und Kot	37

Seite

g. Statistik der ermittelten Werte 38

ERGEBNISSE

1. Eintritt des "exchange equilibrium" 40
2. Resorptionsquotient der Basaldiät 40
3. Resorptionsquotienten der einzelnen getesteten P-Präparate 42
4. Aktivitätsverhältnisse in TCF und Harn 46

DISKUSSION

1. Zur Methodik 49
2. Zu den Ergebnissen 54

ZUSAMMENFASSUNG 57

SUMMARY 59

LITERATURVERZEICHNIS 61

LEBENSLAUF 67

EINLEITUNG

Durch die ständig zunehmenden Leistungsanforderungen an unsere landwirtschaftlichen Nutztiere ist es vielfach nicht mehr möglich, eine ausreichende Mineralstoffversorgung durch das wirtschaftseigene Futter zu gewährleisten.

Wie von verschiedenen Autoren gezeigt wurde, müssen nicht immer als Folge einer ungenügenden Mineralstoffversorgung offensichtliche Mangelkrankheiten auftreten. Genauso häufig und volkswirtschaftlich bedeutungsvoll dürften die gemilderten Mangelsymptome in Form von Leistungsminderungen sein. Die Frage der Mineralstoffsupplementation gewinnt daher eine immer größer werdende Bedeutung.

Neben dem Calcium und den sogenannten Spurenelementen hat der Phosphor (im Folgenden als P bezeichnet) in den verschiedensten P-Präparaten als Supplement in der Tierernährung besondere Bedeutung erlangt.

Allerdings ist der ernährungsphysiologische Wert bei dem üblichen Bezug auf gleichen P-Gesamt-Gehalt (ausgedrückt als P_2O_5) der einzelnen P-Präparate nicht gleich. Hierfür sind 2 Faktoren entscheidend. Einmal ist für den in chemisch unterschiedlichen Verbindungen vorliegenden P aufgrund begrenzter Verdauungsmechanismen keine einheitliche Ausnutzungsgröße bzw. Resorbierbarkeit festzustellen. Zum anderen können in den P-Supplementen neben den eigentlichen P-Verbindungen Stoffe vorliegen, die toxische Wirkungen entfalten, wie z. B. im Thomasmehl, einem Abfallprodukt der Stahlerzeugung, das trotz hoher Resorbierbarkeit bei Wiederkäuern (7) wegen toxischer Nebenwirkungen nicht zur P-Supplementation geeignet ist, wie Brüggemann und Mitarbeiter (6) festgestellt haben.

Die ernährungsphysiologische Qualität eines P-Supplements wird demzufolge vom P-Gehalt und dessen Ausnutzung durch den tierischen Organismus bestimmt, die ihrerseits durch die Resorptionsgröße bei weitgehender Ausschaltung von toxischen Nebenwirkungen des Präparates umschrieben werden.

Wie im folgenden Abschnitt ausgeführt, ist die Bestimmung der Resorptionsgröße von P aus dem Futter problematisch.

Daher erhielt ich von Herrn Prof. Dr. Dr. Dr. h. c. Brüggemann den Auftrag, mittels einer kritischen Literaturdurchsicht Vor- und Nachteile der bisherigen Verfahren aufzuzeigen, um dann in eigenen Experimenten die Resorptionsgröße aus 5 P-Verbindungen unterschiedlicher Herkunft nach dem bestgeeigneten Verfahren zu überprüfen.

L I T E R A T U R

Anhand der Literatur sollen die Methoden aufgezeigt werden, mit denen es einerseits gelang, grundsätzliche Fragen der Resorption und Ausscheidung von Mineralien, insbesonders aber des Phosphors, zu klären, andererseits die Schwierigkeiten einer quantitativen P-Resorptionsbestimmung sowohl aus dem Grundfutter als auch aus den der Nahrung zugesetzten P-haltigen Supplementen zu überwinden.

I. Ältere Bestimmungsverfahren für die P-Resorption

a. Einfache Phosphorbilanzversuche

Das zur Ermittlung des Nährstoffbedarfs angewandte Verfahren einer Bilanzaufstellung wurde ursprünglich auch für die Resorptionsbestimmung des Phosphors herangezogen. Die einfachste P-Resorptionsbestimmung wäre demnach

$$P_{Futter} - P_{Kot} = P_{resorbiert} \qquad [1]$$

Forbes und Mitarbeiter (12) stellten nach dieser Methode an 18 Milchkühen Versuche an und verfolgten die P-Ausscheidung in den einzelnen Laktations- und Trächtigkeitsstadien, sowie im nicht graviden Zustand in 18 Gesamtphosphorbilanzen. Es zeigte sich, daß bei den laktierenden Tieren durch den Kot zwischen 56 % und 81 % des mit der Nahrung aufgenommenen Phosphors wieder ausgeschieden wurden. Bei den am Ende einer Laktationsperiode stehenden und den trocken gestellten Tieren lag die tägliche P-Ausscheidung im Kot zwischen 75 % und 96 % des täglich mit der Nahrung aufgenommenen Phosphors. Ein Tier schied sogar 36 % mehr Phosphor aus als ihm mit der Nahrung zugeführt worden war!

Die P-Ausscheidung in der Milch war proportional der Milchmenge. Die Harnausscheidung des Phosphors war in sämtlichen 18 P-Bilanzen in etwa konstant und betrug im Durchschnitt zwischen 1 % und 2 % der täglichen Gesamt-P-Einnahme.

Bei P-Ausscheidungs- und Resorptionsstudien an Ratten stellten Henry und Kon (19) bei einer durchschnittlichen P-Aufnahme von 533,5 mg eine Kotausscheidung von 54,5 mg pro Tier und Tag fest, das sind 10,2 % der täglichen Nahrungs-P-Aufnahme. Durch den Harn wurden durchschnittlich 111,9 mg P ausgeschieden; bezogen auf die Tages-P-Aufnahme sind das 20,9 %.

Setzt man die Gesamt-Tages-P-Ausscheidung gleich 100 % und vergleicht damit die Ausscheidungsrate in Kot und Harn, so zeigt sich, daß bei der Ratte mit 66,8 % der überwiegende Teil des P durch den Harn ausgeschieden wird und nur 33,2 % durch den Kot. Beim Rind liegen die Verhältnisse umgekehrt; hier erfolgen 98,4 % der Gesamt-P-Ausscheidung durch den Kot und nur 1,6 % werden durch den Harn ausgeschieden. Für den Menschen fanden Hevesey et al. (17) ähnliche Verhältnisse wie bei der Ratte. Das Kot- : Harn-Ausscheidungsverhältnis betrug hier 79 % : 21 %. Von dem mit der Nahrung aufgenommenen Phosphor wurden durch Kot und Harn insgesamt 82,4 % wieder ausgeschieden.

Beim Schwein fand Bootz (5) bei normal ernährten Tieren eine P-Ausscheidung von 23,8 % durch den Darm und von 76,2 % über den Harn. Aus diesen aufgezeigten Versuchen wird ersichtlich, daß bei den verschiedenen Tierarten und beim Menschen ein quantitativ unterschiedlicher Ausscheidungsmechanismus des Stoffwechselphosphors vorliegen muß. Da beim Rind im Harn nur sehr geringe P-Mengen gefunden werden,

kann vermutet werden, daß der größte Teil des Stoffwechselphosphors in den Darm sekretiert wird und so zur Ausscheidung gelangt. Dafür sprechen die Befunde von Forbes, der bei laktierenden Tieren im Durchschnitt weniger P im Kot bei gleichbleibender Nahrungs-P-Konzentration vorfand als bei nicht laktierenden.

Trifft diese Hypothese zu, so ist es erklärlich, warum das Rind so hohe Kot-P-Ausscheidungsraten aufweist. Der in den Darm sekretierte Stoffwechselphosphor würde sich mit dem unresorbiert gebliebenen Nahrungsphosphor vermischen und bei der chemischen Kot-P-Bestimmung nur als Summe aus nicht resorbiertem Nahrungsphosphor plus sekretiertem P erfaßbar sein.

Unter Zugrundelegung der Formel [1] kann daher der tatsächlich resorbierte P nicht berechnet werden, da der Kot-P-Anteil, wie oben aufgrund von Größenvergleichen geschildert, aus zwei Komponenten zu bestehen scheint. Erst weitere Untersuchungen brachten eine Klärung dieser Fragen.

b. Indikator-Verfahren nach Bergein zum Nachweis von in den Darmtrakt sekretiertem Stoffwechselphosphor

Bergein (2, 3) hat bereits 1926 eine Methode veröffentlicht, mit der bewiesen wird, daß eine Sekretion von P in den Darm tatsächlich erfolgt und mit der ferner der Ort der Sekretion bestimmt werden kann. Bergein geht dabei von folgendem Verfahren aus:
Unresorbierbares Eisenoxyd wird dem Futter in einer bestimmten Menge zugesetzt und das P : Fe-Verhältnis in den verschiedenen Darmabschnitten analytisch bestimmt. Beträgt z. B. der Quotient P : Fe in der Nahrung 10 : 1 und in den mittleren Dünndarmabschnitten nur noch

7 : 1, dann sind bis hierher - so folgert Bergein - 70 % des verfütterten P nicht und nur 30 % des Nahrungsphosphors resorbiert worden. Wenn nun der Quotient P : Fe im Dickdarmchymus wieder größer wird und z. B. 9 : 1 beträgt, so ist damit bewiesen, daß eine Sekretion von P in den Darminhalt in den dazwischenliegenden Darmabschnitten stattgefunden haben muß.

Bergein (3, 4) hat auf dieser methodischen Grundlage eine Reihe von Versuchen an Albinoratten durchgeführt und die Phosphorsekretionsraten sowie deren prozentuale Größe in den einzelnen Darmabschnitten verfolgt.

Aus den bisher aufgezeigten Kriterien wird ersichtlich, daß nach der einfachen Bilanzerstellung $P_{Nahrung} - P_{Kot} = P_{resorbiert}$ eine Bestimmung der Phosphorresorptionsgröße nicht möglich ist, da sich der Kotphosphor aus zwei Komponenten zusammensetzt, dem aus der Nahrung unresorbiert gebliebenen (exogenen) und dem in den Chymus sekretierten (endogenen) Anteil:

$$P_{Kot} = \text{exogener Kot-P} + \text{endogener Kot-P} \qquad [2]$$

Beide Anteile sind durch eine quantitative P-Bestimmung im Kot nur als Summe zu erfassen. Daher kann durch eine Phosphorresorptionsbestimmung nach der Formel [1] nur die "scheinbare" Resorptionsgröße ermittel werden. Die "wahre" Resorptionsgröße aus dem mit dem Futter zugeführten Phosphor ergibt sich erst aus

$$\frac{P_{Futter} - (P_{Kot} - \text{endog. Kot-P})}{P_{Futter}} \times 100 = \% \; P_{resorbiert} \qquad [3]$$

Auch mit der Indikatormethode nach Bergein kann die absolute Größe des endogenen Kot-P-Anteils nicht bestimmt werden und zwar deswegen nicht, weil in den verschiedenen Darmabschnitten gleichzeitig P-Resorption und P-Sekretion stattfinden und somit eine Überlagerung beider Vorgänge eintritt und der Quotient P : Fe nur jeweils das Überwiegen des einen oder anderen Anteils ausdrückt. Am vorher zitierten Beispiel erläutert, besagt eine Verkleinerung des Quotienten P : Fe = 10 : 1 in der Nahrung auf 7 : 1 in den mittleren Dünndarmabschnitten lediglich, daß bis dahin die Resorption gegenüber der mengenmäßig unbekannten Sekretion um 30 % überwiegt. Die gleichen prozentualen Verhältnisse, nicht aber die gleichen absoluten P-Mengen, würden auch dann vorliegen, wenn z. B. der Futterphosphor zu 70 % resorbiert worden wäre und eine Sekretion von 40 % stattgefunden hätte!

Zusammenfassend läßt sich damit feststellen, daß eine "wahre" P-Resorptionsbestimmung nur dann möglich ist, wenn es gelingt, den endogenen und exogenen Kotphosphoranteil getrennt zu erfassen.

c. Untersuchungen zur quantitativen Bestimmung des endogenen Kotphosphors

Nicolaysen (37) hat bei Untersuchungen an Ratten zur Ermittlung des Einflusses von Vitamin D auf die Resorption von Ca und P bei normaler und bei Ca-P-verarmter Nahrung die Methode der P-freien Diät zur Bestimmung des endogenen Kot-Phosphors herangezogen. Dazu wurde den Tieren eine völlig P-freie Diät verabreicht, die aus 95 % Dextrose, 4 % Agar und 1 % NaCl bestand und pro Tier 8 g betrug. Der nach einer zweitägigen Sammelperiode im Kot ermittelte P war dann ausschließlich endogener Herkunft und betrug im Durchschnitt 1 mg pro Tier und Tag. Ist nach dieser Methode der endogene Kotphosphor

in einem Vorversuch ermittelt, so kann im Hauptversuch nach der Formel [3] die tatsächliche Resorption einer P-haltigen Verbindung bestimmt werden. Allerdings weist der Autor darauf hin, daß die gefundenen Ergebnisse mit Vorbehalt hinsichtlich der unphysiologischen Fütterungsbedingungen zu interpretieren sind.

Die wahre Größe des endogenen Kotphosphors bei normal ernährten Ratten liegt wesentlich höher. Das ermittelte Kjerulf-Jensen (21) mit Hilfe von radioaktiv markiertem Phosphor, einer Methode, auf die an späterer Stelle noch ausführlich eingegangen werden soll. Dabei wurde eine tägliche endogene P-Ausscheidung von durchschnittlich 13,2 mg gefunden, bei P-frei ernährten Ratten nur 1,7 mg, ein Wert, der mit dem nach der Nicolay'schen Methode ermittelten annähernd übereinstimmt.

Alle bisher angeführten Versuche zeigen, daß mit ihnen eine Bestimmung der wahren P-Resorption nicht möglich ist, weil es nicht gelingt, den endogenen Kot-Phosphor exakt zu bestimmen.

d. Untersuchungen über die Phosphorresorption durch sekundäre Kriterien

Um aber trotzdem eine Aussage über die Verwertbarkeit einer Phosphorverbindung durch den tierischen Organismus machen zu können, wurde und wird noch eine völlig andere Methode angewandt, mit deren Hilfe aufgrund biologischer Merkmale indirekt auf die Resorptionsgröße des P geschlossen werden kann.

Als Kriterien der Mineralresorption werden Futteraufnahmen und -Verwertung, Körpergewichtszunahme, der anorganische Serumphosphorgehalt zu Beginn und am Ende des Versuches, die alkalische Phospha-

taseaktivität, das Wachstum der Knochen, gemessen an einer Rippe und am Femur mit Hilfe der Autoradiographie, die Knochenbruchfestigkeit, sowie der P-Gehalt der Knochen und die prozentuale Zusammensetzung der Knochenasche herangezogen.

Neuere Untersuchungen zur Bestimmung der Verwertbarkeit des P nach diesen Methoden wurden an den verschiedensten Haustieren vorgenommen, so an Küken durch Grau et al. (17) und Motzok et al. (35), an Schweinen von Plumlee und Mitarb. (37) und von Wise et al. (41) an Kälbern. Um die Schwierigkeiten und den Aussagewert dieser Methodik zu verdeutlichen, soll hier kurz der Versuch von Wise und Mitarbeitern beschrieben werden, die an 50 Kälbern die Verwertbarkeit von Dicalciumphosphat, defluoriertem Gesteinsphosphat, Curacao-Island-Phosphat und kolloidalem Lehmphosphat untersuchten. Die Untersuchungen wurden in zwei Versuchsreihen durchgeführt. Experiment I mit 25 männlichen Tieren und Experiment II mit 25 weiblichen. Im Experiment I betrug der Phosphorgehalt der Grundnahrung 0,11 %, derjenige der zu testenden Verbindung 0,19 %, womit der Gesamt-P-Gehalt der Ration 0,3 % betrug.

Im Experiment II wurde der Phosphorgehalt der Grundnahrung auf 0,085 % verkleinert, der Supplementphosphor wurde mit 0,19 % in gleicher Höhe beibehalten.

Die jeweils 25 Tiere wurden in fünf Gruppen zu fünf Tieren aufgeteilt, und die Phosphorresorption nach den eingangs erwähnten Kriterien beurteilt. Die Versuchsdauer des Exp. I betrug 56 Tage, die des Exp. II 99 Tage. Nach statistischer Auswertung der ermittelten Versuchsdaten zeigte sich, daß das defluorierte Gesteinsphosphat nur wenig in der Verwertbarkeit durch Kälber hinter dem reinen Dicalcium-

phosphat zurückstand. Als nächst brauchbar erwies sich das Curacao-Island-Phosphat. Ton-Phosphat war die am wenigsten verwertbare P-Verbindung.

Interessant sind die Unterschiede der Variationskoeffizienten der verwendeten Kriterien bei statistischer Auswertung der Versuchsdaten.

angewandte Kriterien	Variationskoeffizienten (in %)
Gesamtfutteraufnahme	14
Körpergewichtszunahme	25
Futter: Gewichtszunahme	27
Serumphosphorgröße am Ende der Versuche	20
Knochenwachstum (Femur und Rippen)	9
Aschegehalt der Rippen	10
Phosphorgehalt einer Rippe	10
Phosphorgehalt der Asche einer Rippe	3

Außerdem veranschaulicht diese Arbeit den Aussagewert der einzelnen Kriterien, wobei der Serumphosphorgehalt als empfindlichstes und zuverlässigstes Kriterium ermittelt wurde, da hier - im Gegensatz zu den anderen Kriterien - schon zu einem relativ frühen Zeitpunkt innerhalb einer Versuchsperiode auf die Ausnützung des verfütterten P-Präparates durch die einzelnen Tiere geschlossen werden konnte.

Neben der langen Zeitdauer und der großen Anzahl an Versuchstieren, die nötig ist, eine statistische Sicherung der Ergebnisse zu erreichen, besteht ein weiterer Mangel dieser Methode darin, daß eine Aussage über die absolute Resorption des in der Mineralstoffverbindung enthaltenen Phosphors nicht gemacht werden kann.

II. Versuche zur P-Resorptionsbestimmung mit Hilfe von radioaktivem Phosphor

Wie bereits auf S. 7 angeführt, kann die wahre P-Resorption nur

dann bestimmt werden, wenn es gelingt, den endogenen Kot-P vom exogenen getrennt zu erfassen.

Erst durch die Verwendung von Radiophosphor konnte dieses Problem gelöst werden. Eine Trennung des endogenen und exogenen Kot-P kann prinzipiell auf zwei Arten erreicht werden:

1. durch Markierung des Futterphosphors mit P^{32} und die Verfolgung der Resorption und Ausscheidung,

2. durch parenterale Zufuhr von P^{32}, wodurch eine Markierung des Stoffwechselphosphors erreicht wird.

1. Versuche mit oraler P^{32}-Applikation

Diese Methode wurde von Chiewitz und Hevesey (8) erstmals im Jahre 1935 zur Erforschung des Phosphor-Stoffwechsels bei Ratten angewandt, denen ein künstlich radioaktiv markiertes Phosphat peroral verabreicht wurde. Von den verabreichten 2 mg P^{32} wurden am ersten Tag im Kot 7,4 % und im Harn 5 % wiedergefunden In der folgenden Zeit fielen die Aktivitäten in den Exkrementen unter erheblichen Schwankungen ab und stellten sich nach 8 Tagen auf einen konstanten Ausscheidungswert von 1 % der verabreichten P^{32}-Dosis ein. Die anfänglich hohe P^{32}-Ausscheidungsrate und der folgende unregelmäßige Abfall der Aktivitäten sind damit zu erklären, daß ein Teil des zugeführten P^{32} nicht resorbiert wird, also als "exogener" Phosphor im Kot erscheint. Der Teil des P^{32}, der resorbiert wurde, wird in den Organismus eingebaut und im Laufe der Zeit gegen inaktiven P ausgetauscht und erscheint etwa zu gleichen Teilen im Kot und im Harn.

Der als "exogener" Phosphor ermittelte Anteil entspricht aber nicht dem tatsächlich unresorbierten P^{32}-Anteil, da ein kleiner Teil des resorbierten P^{32} aus der Blutbahn sofort wieder in den Darm resekretiert wird und sich mit dem unresorbiert gebliebenen P^{32} vermischt. Um diese Resekretionsrate zu bestimmen, injizierten Cohn und Greenberg (9) 8 Ratten die gleiche Dosis P^{32} intraperitoneal, die 20 Ratten in Form einer P^{32}-markierten Natriumphosphatlösung mit der Magensonde peroral zugeführt worden war. Nach 48 Stunden wurde an diesen 8 Tieren der in den Darm sekretierte P^{32}-Anteil ermittelt und von dem "exogenen" Kot-P der ersten Versuchsgruppe abgezogen, die den Radiophosphor mit der Magensonde zugeführt bekam, und somit die tatsächliche Größe des unresorbierten (= exogenen) P^{32} bestimmt.

Untersuchungen an landwirtschaftlichen Nutztieren über die wahre P-Resorption durch Markierung des Futterphosphats mit P^{32} führten Lofgreen und Mitarbeiter (25) durch. An 4 Kälbern wurde als einziger Phosphor- und Eiweißträger ein mit P^{32} markiertes Casein verfüttert. Das P^{32}-haltige Casein wurde auf biologischem Wege synthetisiert, indem einem laktierenden Rind eine isotonische, mit P^{32} markierte Natriumphosphatlösung injiziert wurde. Das aus der Milch des so vorbehandelten Rindes gewonnene Casein wurde zusammen mit Karmin als Indikator verfüttert, der Kot nach Auftreten des Farbstoffes gesammelt und die darin enthaltene P-Menge sowie die P^{32}-Aktivität bestimmt.

Der Erfassung des endogenen P nach dieser Methode liegt folgender Gedankengang zugrunde:
Im P^{32}-Casein liegt ein bestimmtes Verhältnis von Gesamtphosphor zu aktivem Phosphor ($P_{ges.} : P^{32}$) vor. Das unverdaut gebliebene

Casein, das im Kot wieder erscheint, muß das gleiche Markierungsverhältnis aufweisen wie das Nahrungscasein. Tritt nun im Kot eine Vergrößerung des Quotienten P : P^{32} ein, dann muß diese durch denjenigen P-Anteil hervorgerufen worden sein, der in den Darm sekretiert worden ist und den wir definitionsgemäß als endogenen Phosphor bezeichnen.

Gleichzeitig muß aber berücksichtigt werden, daß ein - wenn auch geringer - Teil des resorbierten P^{32} wieder in den Verdauungstrakt ausgeschieden wird. Das Ausmaß dieser Resekretion wurde von den Untersuchern (26) in einem Parallelversuch ermittelt, in dem vier anderen Kälbern eine P^{32}-haltige Natriumphosphatlösung so lange stufenweise intravenös injiziert wurde, bis im Blut die gleiche Aktivität auftrat, wie sie bei den anderen Kälbern durch Verfütterung von P^{32}-Casein bedingt war. Der im Kot dieser Kälber auftretende P^{32} stellt dann die Resekretionsrate dar und betrug innerhalb von 24 Stunden durchschnittlich 2,5 % des gesamten im Blut kreisenden Radiophosphors.

Die Autoren geben ferner eine mathematische Beziehung an (deren Ableitung allerdings in der Arbeit nicht diskutiert wird), mit deren Hilfe es möglich ist, den resekretierten P^{32}-Anteil zwischen dem ersten Auftreten im Kot nach der P^{32}-Injektion, was nach 5 Stunden der Fall war, und der 34. Stunde post injectionem zu berechnen. Diese Gleichung lautet:

$$y = 0{,}12\ x - 0{,}57 \qquad [4]$$

wobei y die korrigierte spezifische Aktivität des resekretierten P^{32} und x die Zeit zwischen der 5. und 34. Stunde post injectionem darstellt.

(Die korrigierte spezifische Aktivität ist definiert als:

$$\frac{\mu Ci\ P^{32}/g\ P \text{ in der zu untersuchenden Probe}}{\mu Ci\ P^{32}_{injiziert}/100\ g \text{ Körpergewicht}} \quad) \qquad [5]$$

Der ermittelte resekretierte P^{32}-Anteil, ausgedrückt in korrigierter spezifischer Aktivität, muß von der korrigierten spezifischen Aktivität des Kotes subtrahiert und dieser Wert für die Berechnung des endogenen Kotphosphors zugrundegelegt werden.

2. Versuche mit parenteraler P^{32}-Applikation

Hevesey, Hahn und Rebbe (20) veröffentlichten 1939 eine Methode, die durch parenterale P^{32}-Zuführung eine Markierung des Stoffwechselphosphors bewirkt und eine Berechnung des endogenen Kotphosphors ermöglicht.

Diesem Verfahren, das heute in verschiedenen Modifikationen zur Ermittlung der Phosphorresorptionsquoten das geläufigste ist und als "Isotopenverdünnungsmethode" bezeichnet wird, liegt folgender Gedankengang zugrunde:
Appliziert man einem Versuchstier parenteral eine P^{32}-Verbindung, so wird nach einer bestimmten Zeit eine gleichmäßige Verteilung des P^{32} im Körper erfolgen, wobei sich in jedem Organ das gleiche Verhältnis von aktivem zu inaktivem P einstellen wird. Dieses Markierungsverhältnis $P^{32} : P^{31}$ wird als spezifische Aktivität, ausgedrückt z. B. in μCi/g P, bezeichnet. Setzt man voraus, daß der gesamte Nahrungsphosphor resorbiert wird, so kann der im Kot gefundene P nur körpereigener (= endogener) Herkunft sein.

Nach Hevesey (20) entstammt dieser momentan im Darmtrakt vorhandene Phosphor der anorganischen P-Komponente des Blutplasmas, und deshalb muß - gleichmäßige P^{32}-Verteilung im Gesamtorganismus vorausgesetzt - die spezifische Aktivität des Kotes im obigen Fall gleich der des Blutplasmas sein. Die spezifische Aktivität des anorganischen Plasmaphosphors müßte auch mit der des Harns identisch sein, da auch der Harn-P letztlich aus dem anorganischen Plasma-P entstammt. Folglich müssen auch die spezifischen Aktivitäten von Harn und Kot identisch sein. Diese Gleichheit wird von Hevesey zur Berechnung des endogenen Kot-Phosphors zugrundegelegt.

Trifft nun die Voraussetzung der vollständigen Nahrungsphosphorresorption nicht zu, so ist ein Teil des Kotphosphors unresorbiert gebliebener Nahrungsphosphor, und dieser inaktive Phosphor "verdünnt" das Verhältnis $\frac{P^{32}}{P^{31}}$, d.h. der Quotient $\frac{P^{32}}{P^{31}}$ wird kleiner. Die Größe

$$\frac{\text{spezif. Aktivität des Kot-P}}{\text{spezif. Aktivität des Harn-P}} \times 100 \qquad [6]$$

gibt somit den Prozentsatz des endogenen Phosphors vom Gesamtkotphosphor an. Da nach obigen Uberlegungen die spezifischen Aktivitäten von Harn und anorganischem Plasmaphosphor gleich sein müssen, könnte man auch zur Bestimmung des endogenen Kot-P die spezifische Aktivität des Plasmas zugrundelegen. Dann würde die Formel zur Berechnung des endogenen Kot-P lauten:

$$\frac{\text{spezif. Aktivität des Kot-P}}{\text{spezif. Aktivität des anorg. Plasma-P}} \times 100 = \% \text{ des endogenen Phosphors vom Gesamt-Kot-P} \qquad [7]$$

Hevesey und Mitarbeiter (20) machten allerdings einen Einwand bezüglich des gleichen Markierungsverhältnisses oben genannter Kriterien geltend: Der in den Darm sekretierte endogene Phosphor besteht nicht nur aus einfach zusammengesetzten P-Verbindungen, die relativ schnell markiert werden, sondern aus komplizierten organischen Verbindungen (Phosphatide), die im Laufe der intermediären Synthese und des Abbaus erst langsam markiert werden und daher eine bestimmte Zeit ein anderes Markierungsverhältnis aufweisen als das Bezugssystem, für das von Hevesey der Harn gewählt wurde, dessen P-Verbindungen relativ einfach zusammengesetzt sind. Dieser Einwand wird nach Hevesey jedoch hinfällig, wenn zwischen der P^{32}-Injektion und dem Beginn der Probenanalysen von Kot und Harn ein beträchtlicher Zeitraum verstrichen ist. Während dieser Zeitspanne würde ein gleichmäßiger Austausch zwischen dem injizierten P^{32} und dem anorganischen P des Plasmas in den Geweben erfolgen. Hevesey bezeichnet diesen Zustand als "exchange equilibrium".

Hevesey schlägt ferner vor, die spezifischen Aktivitäten des Kotes nicht mit der des Harnes vom selben Tag zu vergleichen, sondern mit denjenigen des Harnes, welcher einen Tag vorher gesammelt wurde, da der Kot im Intestinum eine längere Verweildauer hat, ehe er entleert wird, und damit erst zu einem späteren Zeitpunkt gesammelt werden kann als der ihm entsprechende Harn.

Nach dieser Methode wurde neben der Phosphorresorptionsbestimmung am Menschen, gemeinsam mit Kjerulf-Jensen, die Resorptionsquote von Hevesey et al. (20) an einer Ratte bestimmt. 98 Tage nach subkutaner Injektion von P^{32}-Natriumphosphatlösung wurde eine spezifische Akti-

vität des Kotes von $0{,}16 \times 10^{-2}$ gefunden, die des dazugehörigen Harnes betrug $0{,}39 \times 10^{-2}$. Nach der Formel [6] errechnet sich daraus der endogene Kot-P

$$\frac{0{,}16 \times 10^{-2}}{0{,}39 \times 10^{-2}} \times 100 = 41\ \% \text{ (vom Gesamtkotphosphor)}$$

Da - wie schon aufgeführt - diese Methode die Gleichheit der spezifischen Aktivitäten von endogenem Kot-Phosphor und Harn zur Voraussetzung hat, überprüften Hevesey und Mitarbeiter (20) diese Voraussetzung an einer Katze in folgender Weise: P^{32}-Phosphat wurde der Katze injiziert, das Tier wurde nach 17-tägigem Fasten getötet und die Aktivität des zuletzt gesammelten Harnes mit der des Darminhaltes verglichen und eine Übereinstimmung innerhalb der Fehlergrenze von $\pm$ 4 % gefunden.

Kjerulf-Jensen (21) wies das gleiche Markierungsverhältnis von Kot und Harn vom 6. bis 13. Tag an zwei P-frei ernährten Ratten nach.

Die bisher aufgezeigten Versuche mit der Isotopenverdünnungsmethode wurden ausschließlich mit kleinen Labor- und Haustieren durchgeführt. Bei landwirtschaftlichen Nutztieren brachten Kleiber und Mitarbeiter als erste die Methode der "Dynamischen Isotopenverdünnung" an Rindern zur P-Resorptionsbestimmung zur Anwendung.

Die Versuche wurden an zwei Jersey-Kühen durchgeführt. Tier I erhielt 2 x täglich über einen Zeitraum von 23 Tagen, Tier II ebenfalls 2 x täglich, aber nur 10 Tage lang, P^{32} in isotonischer Lösung intravenös injiziert. Als Bezugskriterien für die Bestimmung des endogenen Kot-Phosphors wurde das Blutplasma gewählt, ferner sollte

überprüft werden, inwieweit auch die Milch als Bezugskriterium in Frage kommt, da diese letztlich auch ihren P aus dem Blutplasma bezieht und daher das gleiche Markierungsverhältnis aufweisen muß wie dieses. Am Tier I konnte ferner nachgewiesen werden, daß zwischen dem 13. und 23. Tag der Injektionsperiode ein konstantes Verhältnis von P^{32} : P sowohl im Blut als auch im Kot vorlag, während vor und nach diesem Zeitpunkt dies nicht der Fall war. Daher wurden zur P-Resorptionsbestimmung die Kot- und Plasmaproben während dieses Zeitraumes gewählt. Beim 2. Tier wurden die einander entsprechenden Proben in der Zeit vom 3. bis 9. Tag nach der letzten Injektion zur Bestimmung der wahren P-Resorption herangezogen.

Die Höhe des endogenen P, einmal aus dem Verhältnis $\frac{\text{spezif. Aktivität Kot}}{\text{spezif. Aktivität Harn}}$ = 14,0 % (vom Gesamt-Kot-P) und einmal aus dem Verhältnis $\frac{\text{spezif. Aktivität Kot}}{\text{spezif. Aktivität Milch}}$ = 14,6 %, ergab im ersten Versuch annähernd die gleichen Werte. Im Versuch am Tier II konnte eine Übereinstimmung mit Werten von 10,1 % und 8,4 % nicht ermittelt werden.

Die gleichen Autoren haben schon in früheren Versuchen mit einmaliger Injektion von P^{32} nachgewiesen, daß das Maximum der spezifischen Aktivität des Blutes im Durchschnitt 2 Tage früher erscheint als im Kot. Daher ist bei Berechnung des endogenen Kot-P der spezifischen Aktivität des Plasmas diejenige des Kotes zuzuordnen, welcher erst 2 Tage später gesammelt werden kann. Die Gleichung für die Berechnung des endogenen Kotphosphors lautet dann:

$$E = \frac{f_{(t+2)}}{p_{(t)}} \times 100 \qquad [8]$$

wobei E = endogener Kot-P in % vom Gesamt-Kot-P

p = spezif. Aktivität des Plasmas zur Zeit t

f = spezif. Aktivität des Kotes zur Zeit t + 2 Tage ist.

Bei P-Resorptionsstudien aus Heu an Schafen injizierten Lofgreen und Kleiber (28) zur Markierung des Stoffwechselphosphors 4 x täglich 150 Micro-Ci P^{32} intravenös. Insgesamt wurden an jedem Tier 14 Injektionen vorgenommen. Eine Vereinfachung der Methodik erzielten die gleichen Autoren (29), als sie bei weiteren P-Resorptionsstudien aus Heu statt der wiederholten intravenösen P^{32}-Injektion nur eine einmalige Dosis von 4,4 Milli-Ci P^{32} in Form einer isotonischen Natriumphosphatlösung 4 Schafen subkutan injizierten. Das Maximum der Aktivität im Blut wurde aus dem Trichloressigsäurefiltrat (im Folgenden immer als TCF bezeichnet) des Plasmas bestimmt und trat bei allen vier Tieren innerhalb des ersten Tages auf, während das Maximum der Kotaktivitäten erst einen Tag später nachgewiesen werden konnte.

Des weiteren überprüften die Autoren, inwieweit die spezifischen Aktivitäten des Harnes bei Schafen mit denjenigen des anorganischen Plasma-Phosphors vergleichbar sind. Es zeigte sich, daß innerhalb der ersten 14 Tage post injectionem keine Gleichheit der spezifischen Aktivitäten von Plasma-P und Harn-P vorlag. Dagegen zeigten die spezifischen Aktivitäten von Kot-P und Plasma-P ein konstantes Verhältnis von P^{32} : P, das vom 4. Tag nach der P^{32}-Injektion bis zum 7. Tag durch eine logarithmische Funktion ausgedrückt werden kann und nach diesem Zeitpunkt in eine lineare Funktion übergeht. Daher schlagen die Untersucher vor, erst ab diesem Zeitpunkt die Plasmaproben mit den 24 Stunden später gesammelten Kotproben zur Berechnung der P-Resorption heranzuziehen.

Eine weitere Vereinfachung der Methodik für Routineuntersuchungen sehen die Autoren darin, daß es anscheinend genügt, die P^{32}-Aktivitäten des Plasma-TCF am 7. und 13. Tag post injectionem zu bestimmen und das geometrische Mittel daraus zu berechnen. Die spezifischen Aktivitäten des Kotes werden nicht aus den täglichen Einzelkotproben ermittelt sondern aus dem Gesamtkot vom 8. bis 14. Tag, d.h. das geometrische Mittel der spezifischen Kotaktivitäten wird nicht berechnet sondern gemessen. Aus dem errechneten Mittel der TCF-Aktivitäten und der gemessenen durchschnittlichen Aktivität des Kotes wird der während dieser Zeitdauer durchschnittlich ausgeschiedene endogene Kot-P berechnet. In drei von vier Versuchen konnte eine absolute Übereinstimmung der so ermittelten spezifischen Aktivitäten des Kot-P mit denjenigen festgestellt werden, die sich aus sieben Einzelproben ergaben. Im vierten Versuch war die Abweichung nur ganz geringgradig.

Seuss (38) konnte diese Übereinstimmung nicht feststellen. Nach diesen Versuchen lag die durchschnittliche P^{32}-Aktivität der Gesamtkotmenge über eine Versuchsdauer von 7 Tagen um 17 - 20 % niedriger als sie aus dem Mittel von 7 Einzelproben errechnet worden war.

Bezüglich der gleichen spezifischen Aktivitäten von TCF und Harn fand Seuss eine bemerkenswerte Übereinstimmung zwischen dem 8. und 16. Tag post injectionem bei 7 willkürlich während der laufenden Versuchsreihen entnommenen Proben.

Es liegen aber auch Ergebnisse in der Literatur vor, bei denen zwischen den spezifischen Aktivitäten von Blut-Plasma bzw. dessen TCF und Harn keine Übereinstimmung gefunden wurde. Lofgreen und Kleiber (29) stellten bei P-Resorptionsstudien an vier Hammeln fest,

daß nach subkutaner P^{32}-Natriumphosphatlösung die spezifische Aktivität des TCF bis zum 6. Tag post injectionem größer, ab diesem Zeitpunkt aber kleiner als die des dazugehörigen Harnes war. Bootz (5) fand bei jungen wachsenden Schweinen die spezifischen Aktivitäten von TCF und Harn ebenfalls nicht gleich groß.

Lantzsch et al. (24) bezweifeln, daß es aufgrund dieser und eigener Befunde richtiger sei, zur Berechnung des endogenen Kot-P das Blutserum als Bezugsbasis zu verwenden. Der endogene P und der Harn beziehen ihren P letztlich aus dem Blut. Wenn aber die spezifischen Aktivitäten von Blutserum und Harn nicht übereinstimmen, dann brauchen jene des Blutserums und endogen Kot-P auch nicht identisch zu sein. Es wurde deshalb versucht zu klären, inwieweit die letztgenannte Beziehung beim P-frei ernährten erwachsenen Schwein zutrifft.

Um diese Frage beantworten zu können, injizierten Lantzsch und Mitarbeiter (24) zwei P-frei ernährten Sauen P^{32}-markierte Orthophosphatlösung intramuskulär und verglichen die spezifischen Aktivitäten von Harn-P und Kot-P, der in diesem Fall identisch mit dem endogenen P ist. Es wurde gefunden, daß die spezifischen Aktivitäten im Kot beider Tiere am 6. Tag post injectionem etwa 20 % über den spezifischen Aktivitäten des dazugehörigen Harnes liegen und daß eine Übereinstimmung der spezifischen Aktivitäten von Kot und Harn bei einem Tier nach 25 Tagen, beim zweiten Tier nach 35 Tagen innerhalb der maximalen Fehlergrenze des Experiments von $\pm$ 4 % zustande kommt.

Diese Versuchsanstellung hat allerdings den großen Nachteil, daß sie von unphysiologischen Verhältnissen ausgeht. Kjerulf-Jensen (21)

hat bereits 1941 bewiesen, daß bei P-frei ernährten Ratten die endogene Kot-Phosphor-Ausscheidungsrate wesentlich geringer ist als bei normal ernährten. Es ist naheliegend, daß auch das Schwein bei P-freier Nahrung diesbezügliche Unterschiede aufweisen wird. Damit ist anzunehmen, daß bei derartigen Versuchen mit P-freier Nahrung die Um- und Abbauvorgänge sowohl in den anorganischen wie auch organischen P-Verbindungen der einzelnen Organe verzögert ablaufen, so daß sich das "exchange equilibrium" mit dem parenteral zugeführten P^{32} zu einem wesentlich späteren Zeitpunkt einstellen wird als bei P-normal ernährten Tieren. Ferner erhebt sich die Frage, ob der unter diesen Bedingungen ermittelte endogene Kot-P hinsichtlich seiner qualitativen Zusammensetzung mit dem unter physiologischen Verhältnissen ermittelten identisch ist.

Die Beobachtung, daß die spezifischen Aktivitäten von Harn und Blutplasma nicht übereinstimmen, wurde auch bereits bei Stoffwechseluntersuchungen mit Hilfe von P^{32} von anderen Autoren gemacht. Friedlander und Wilde (13) beobachteten bereits 1951 bei renalen Ausscheidungsstudien von P^{32}, daß im Harn die spezifischen Aktivitäten 2 - 5 mal höher lagen als im Blutplasma. Diese Verschiedenheit interpretierte Govaerts (16) nach eigenen Versuchen dahingehend, daß im Plasma neben einer "mineralischen" eine zweite säurelösliche P-Fraktion vorliegt, die aber im Gegensatz zur ersteren ihren inaktiven P gegen P^{32} langsam austauscht und die ferner nicht ultrafiltrierbar ist und daher in der Niere nicht zur Ausscheidung gelangt.

Fuchs et al. (14) geben nach Versuchen an Meerschweinchen an, daß etwa 10 % des TCF-Phosphors in dieser labilen, nicht diffundier-

baren Form vorliegen, die aber bei der chemischen Gesamt-P-Bestimmung des TCF als anorganischer P mit bestimmt werden.

Werden diese zuletzt aufgezeigten Kriterien berücksichtigt, so ist es durchaus erklärlich, daß die spezifische Aktivitat von Blutplasma bzw. TCF kleiner ist als die des Harnes, und daß eine asymptotische Angleichung beider Größen erst nach längerer Zeitdauer zu erwarten sein wird, weil dann auch in der zweiten Plasmakomponente der inaktive P gegen P^{32} ausgetauscht sein wird. Es ist bemerkenswert, daß nicht nur beim Phosphoranteil des Plasmas eine derartige langsam P^{32} einbauende anorganische Komponente vorliegt, sondern ebenso beim Calciumanteil für Ca^{45}, wie von Giese und Comar (15) bewiesen wurde.

III. Die P-Resorptionsbestimmung bei Vergleich der Isotopenverdünnungsmethode mit der "komparativen Bilanz"

Hansard (18) versuchte die Bestimmung des endogenen Calcium*-Anteils mit einer von ihm als "komparative Bilanz" bezeichneten Methode. Dieses Ver ren wurde von Comar (8) nach eigenen Versuchen überprüft und ausführlich diskutiert.

Bei diesem Verfahren genügt eine einmalige Dosis von Radiocalcium (= Ca^{45}), oral verabfolgt, mit anschließender Bestimmung des mit den Faeces ausgeschiedenen Ca^{45}-Anteils in % der verabfolgten Dosis, sowie der aufgenommenen und ausgeschiedenen inaktiven Ca-Mengen zur Bestimmung des endogenen Ca-Anteils. Ferner muß in einem Vorversuch die aus dem Blut in den Darm resekretierte Ca^{45}-Menge für jeden Ver-

---

* im Folgenden durch das chem. Symbol Ca ausgedrückt

such extra bestimmt werden. Der endogene Ca-Anteil wird dann nach der Formel

$$E = \frac{100 - \text{Kot-Ca}^{45}}{1 - B} - (100 - \text{Gesamt-Kot-Ca}) \qquad [9]$$

berechnet, deren Ableitung in der Arbeit von Comar (8) ausführlich geschildert wird.
In obiger Formel stellt E den endogenen Ca-Anteil in % vom Gesamt-Kot-Ca und B die Resekretionsrate des oral eingegebenen Ca^{45} dar.

Comar et al. (10) überprüften in einem Versuch an 2 Ochsen, inwieweit der mit Hilfe der Isotopenverdünnungsmethode ermittelte endogene Ca-Anteil des Gesamt-Kotes mit dem nach der komparativen Bilanz ermittelten übereinstimmt. Der mit der Isotopenverdünnungsmethode ermittelte endogene Ca-Anteil betrug bei Tier 1 täglich 4,6 g und bei Tier 2 5,2 g. Mit der "komparativen Bilanz" wurden bei Tier 1 täglich 4,5 g und bei Tier 2 5,8 g endogenes Ca gefunden; somit lag eine Übereinstimmung innerhalb der Fehlergrenze dieses Experimentes vor.

Tillmann und Brethour (39) übertrugen die Methode der komparativen Bilanz auf P-Resorptionsstudien und verwendeten gleichzeitig die Isotopenverdünnungsmethode. Bei diesen Versuchen an Schafen konnte keine befriedigende Übereinstimmung bezüglich der endogenen P-Ausscheidungsrate, die einmal nach der komparativen Bilanz und zum anderen nach der Isotopenverdünnungsmethode ermittelt wurde, festgestellt werden, wohingegen sich für Ca eine gute Übereinstimmung ergab. Wahrscheinlich sind die Differenzen mit den unterschiedlichen Transport- und Verteilungsmechanismen für P und Ca zu erklären.

Comar et al. (10) stellen in ihren eigenen Untersuchungen fest, daß für die Anwendbarkeit der "komparativen Bilanz" zwei Voraussetzungen gegeben sein müssen. Einmal muß die oral gegebene Radiocalciumverbindung den gleichen physiologischen Resorptionsgesetzen unterliegen, wie sie für das natürliche Nahrungs-Ca gegeben sind. Zum anderen müssen das oral zugeführte Element und das inaktive stabile Element in der Nahrung 100 %ig durchmischt werden, ehe die Resorptionsvorgänge einsetzen. Für das leicht lösliche $Ca^{45}Cl_2$ und das erst aus der Nahrung freizusetzende inaktive Ca kann aber die letztgenannte Voraussetzung kaum erwartet werden. Bezüglich der vielen,organischen Phosphor enthaltenden Verbindungen in der Nahrung ist es nach Tillmann (39) wahrscheinlich, daß nur ein Teil dieser Verbindungen in einer Form vorliegt, die sich physiologisch wie die oral applizierte P^{32}-Verbindung verhalten und eine 100 %ige Vermischung zulassen. Trifft dies zu, so wird mit Hilfe der "komparativen Bilanz" nur die Resorption der P^{32}-durchmischten Fraktion des Nahrungsphosphors und nicht die des Gesamt-P der Nahrung bestimmt.

Durch weitere Untersuchungen muß daher erst die Frage der Austauschbarkeit von oral verabreichtem P^{32} mit den verschiedensten organischen P-Verbindungen der Nahrung geklärt werden, ehe die Methode der komparativen Bilanz bei P-Resorptionsbestimmungen routinemäßig zur Anwendung kommen kann.

Zusammenfassend läßt sich somit feststellen, daß zur Bestimmung des endogenen Kot-Phosphors und damit zur Berechnung der wahren P-Resorptionsgröße das Isotopenverdünnungsverfahren die am besten geeignete Methode ist, obwohl - wie anhand der Literatur aufgezeigt wurde - auch hier die Frage noch nicht zufriedenstellend geklärt

ist, ob als Bezugssystem zur Berechnung des endogenen Kot-Phosphors die spezifische Aktivität des Harnes oder des TCF des Blutplasmas zugrundegelegt werden soll.

Aus diesen Gründen sollte in eigenen Versuchen u. a. überprüft werden, ob nicht schon zu einem früheren Zeitpunkt, als bisher angenommen, zwischen den spezifischen Aktivitäten des TCF und des Harnes eine Übereinstimmung bei Wiederkäuern festzustellen ist; denn dann wäre es gleichgültig, ob zur Berechnung des endogenen Kot-P die spezifischen Aktivitäten des Harnes oder des TCF als Bezugssystem herangezogen werden.

E I G E N E V E R S U C H E

1. Versuchsprinzip

Die Versuchsanstellung erfolgte nach der von Lofgreen (30) bei Schafen angewandten Modifikation des von Hevesey et al. (17) entwickelten Isotopenverdünnungsverfahrens. Mit diesem Verfahren soll der Phosphorresorptionsquotient von 5 Phosphorpräparaten in Modellversuchen an Schafen bestimmt werden.

Zu diesem Zweck wurden 5 Schafe in Stoffwechselkäfige verbracht, die ein getrenntes Auffangen von Harn und Kot ermöglichten. Nach 14-tägiger Vorfütterungsperiode, in der die jeweils zu testende P-Verbindung bereits unter die Basaldiät gemischt worden war, wurde die Markierung des Stoffwechselphosphors mit radioaktiver $Na_2HP^{32}O_4$-Lösung durch einmalige s.c. Injektion vorgenommen. Nach weiteren 7 Tagen, in denen sich das "exchange equilibrium" zwischen dem applizierten Radiophosphor und dem inaktiven Körperphosphor einstellte, wurde mit der Blut-, Harn- und Kotprobensammelperiode begonnen, die sich auf 7 Tage erstreckte. Über die Bestimmung der spezifischen Aktivitäten des P im Blut bzw. im Harn und im Kot sowie mit Hilfe einer P-Bilanz läßt sich die wahre P-Resorption der zugesetzten P-Verbindungen berechnen, sofern in einem Vorversuch diejenige der Basaldiät ermittelt wurde. Nach Beendigung einer Versuchsreihe wurden die 5 Tiere nach dreiwöchiger Zwischenpause erneut zur nächsten Versuchsserie herangezogen, wobei in 5 Hauptversuchen alle 5 Präparate nebeneinander an jedem Tier zum Einsatz gelangten.

2. Versuchstiere, Grundfutterzusammenstellung und zu untersuchende Verbindungen

Zur Bestimmung der P-Resorptionsgröße der zu testenden P-Verbindungen wurden 1 1/2-jährige Hammel vom Typ des württembergischen Merinolandschafes herangezogen. Die Tiere stammten aus der gleichen Zuchtherde und wurden, nachdem die parasitologische Kotuntersuchung einen mittel- bis hochgradigen Befall mit Magendarmwürmern (Haemonchus, Trichostrongylus, Chabertia, Oesophagostomum, Strongyloides, Nematodirus) und vereinzelten Coccidienoocysten (Eimeria parva und faurei) ergeben hatte, zweimal peroral mit jeweils 5 g "Phenothiazin" pro 10 kg Körpergewicht und einmal parenteral mit "Dekhelmin" (2,0 ml pro 10 kg Körpergewicht subkutan injiziert) im Abstand von jeweils einer Woche in der angeführten Weise antiparasitär behandelt, um Störungen der Resorptionsvorgänge auszuschalten. Die danach erneut durchgeführte Kotuntersuchung ergab nur noch vereinzelt das Vorkommen obiger Parasiten.

Bei der Zusammenstellung der Grundfutterration (Basaldiät) wurde einerseits ein möglichst geringer P-Gehalt, andererseits eine gute ernährungsphysiologische Ausgeglichenheit angestrebt. Da es schwierig war, eine Basaldiät zusammenzustellen, die diesen Forderungen entsprach, wurde, um die Eiweißversorgung sicher zu stellen, ein Anteil von 1 % Harnstoff dem Grundfutter zugesetzt. Die Trockenfutterbestandteile lagen in grob gemahlener Form vor. Durch das Vermischen mit der Melasse hatte das Endprodukt eine krümelige Beschaffenheit und wurde von den Tieren anstandslos aufgenommen.

Die einzelnen Bestandteile der Basaldiät sind aus folgender Tabelle zu ersehen:

Berechnet auf die Tagesration von 1000 g pro Tier*

	%	Verd. Rohpr. g	Verd. Rohfett g	Verd. Rohfas. g	Verd. N-fr. E. g	Stärke Einh.	Ca g	P g
Gerstenschrot	15	11,3	2,3	1,0	90,0	103,3	0,10	0,49
Sojaschrot getoastet	5	21,3	0,2	2,2	13,0	24,8	0,13	0,33
Grünmehl	20	19,7	1,8	26,9	34,8	92,4	0,94	0,60
Haferschalen gemahl.	25	2,2	3,9	27,9	43,5	39,8	0,34	0,30
Melasse	7,5	2,3	-	-	43,7	34,0	0,23	0,02
Trockenschnitzel	25	10,8	-	31,5	128,4	126,0	2,07	0,23
Harnstoff	1	(26,2)						
jodiertes NaCl	0,5							
Vit. Vormischung	0,5	eingest. auf 5000 I.E. Vit. A u. 1000 I.E. Vit. D_3 pro 1000 g Futter						
zu test. P-Verbind.	≙0,5							
	100,0	67,6	8,2	89,5	353,4	430,3	3,81	1,97
		(93,8)						

Die chemische Analyse der Basaldiät ergab einen Ca-Gehalt von 0,48 %, der P-Gehalt wurde mit 0,20 % ermittelt, womit obige Berechnung durch die Analyse annähernd bestätigt wurde. Das Ca : P-Verhältnis des Grundfutters betrug somit 2,4 : 1.

---

* Sämtliche Werte wurden nach den DLG-Futterwerttabellen für Wiederkäuer, Auflage 1961, berechnet.

Die zu untersuchenden Phosphorverbindungen waren: *

Verbindung 1: Dicalciumphosphat, mit einem Ca-Gehalt von 28,38 % und einem P-Gehalt von 21,5 %;

Verbindung 2: Dicalciumphosphat 40 %, mit einem Ca-Gehalt von 25,96 % und einem P-Gehalt von 18,95 %;

Verbindung 3: Knochenfuttermehl, mit einem Ca-Gehalt von 30,39 % und einem P-Gehalt von 14,40 %;

Verbindung 4: Knochenfutterschrot 40 %, mit einem Ca-Gehalt von 34,38 % und einem P-Gehalt von 16,68 %;

Verbindung 5: Belgisches Dicalciumphosphat 40 %, mit einem Ca-Gehalt von 25,07 % und einem P-Gehalt von 18,31 %.

Der Ca- und P-Gehalt der 5 Verbindungen wurde in Doppelanalysen bestimmt und gemittelt. 5 g der Substanz wurden jeweils verascht und in je 200 mg Asche die Analysen durchgeführt.

Die Korngröße der 5 P-Präparate wurde durch DIN-Siebe ermittelt. Alle einzelnen Verbindungen hatten eine Korngröße kleiner als 0,1 mm. Die Präparate wurden der Basaldiät in entsprechender Menge zugemischt und zwar so, daß sich der P-Gehalt der Ration genau auf 0,6 % erhöhte. Somit wurden an jedes Tier pro Tag bei einer Gesamtfuttermenge von 1 kg 6 g Phosphor verfüttert, wovon 2 g aus der Basaldiät und 4 g aus der zu untersuchenden Verbindung stammten. Das Futter wurde 2 x täglich zu je 500 g verabreicht und von den Tieren vollständig aufgenommen, so daß eine Rückwaage nie erforderlich war.

---

* Sämtliche Präparate wurden von der Firma Scheidemantel-Motard-Werke, Wiesbaden, zur Verfügung gestellt.

3. Versuchsdurchführung

Die Tiere wurden vier Wochen vor Versuchsbeginn in Stoffwechselkäfige gebracht, wie sie von Wilson et al. (40) beschrieben wurden. Diese von uns etwas modifizierten Stoffwechselkäfige ermöglichten eine einwandfreie Trennung von Harn und Kot, nachdem den Tieren zusätzlich noch Plastik-"Kotschürzen" angelegt worden waren, aus denen der gutgeformte Kot sofort in die Sammelgefäße abrollte.

Nach 14-tägiger Vorfütterung, die im Versuch I nur aus der Basaldiät, in den weiteren 5 Versuchen, in denen jede Verbindung an jedem Tier getestet werden sollte, aus der Basaldiät plus den zu untersuchenden P-Verbindungen bestand, wurde die Radiophosphorlösung mit einer Aktivität von 4 mCi pro Tier injiziert. Im Versuch I wurde der zeitliche Abstand der Maxima der spezifischen Aktivitäten in Blut, Kot und Harn ermittelt, um eine richtige Zuordnung der Proben bei der Berechnung des endogenen Kot-P sicher zu stellen. Acht Tage post injectionem wurde mit der Sammlung der Proben begonnen. Im Versuch I und III wurden neben den Blutproben auch die Harnproben gesammelt, um Markierungsverhältnis beider Körperflüssigkeiten über die Zeitspanne einer Versuchsperiode überprüfen zu können. Der zeitliche Abstand zwischen den einzelnen Versuchsperioden betrug 3 Wochen, wobei 8 Tage nach Beendigung der einen Versuchsperiode bereits wieder mit der Vorfütterung für die nächste Versuchsperiode begonnen wurde. Nach weiteren 8 Tagen erfolgte die erneute Injektion des Radiophosphors.

4. Aufarbeitung und Analytik der Proben

a. Blut: Die aus der V. Jugularis entnommene Blutprobe von 20 ml wurde mit Heparin als Antikoagulans versetzt. Nach 30-minütigem

Zentrifugieren bei 3000 U/Min. wurde das überstehende Plasma in einen Meßzylinder abpipettiert. Das Sediment wurde mit 10 ml physiologischer Kochsalzlösung nachgewaschen und erneut wie oben zentrifugiert. Die danach überstehende Flüssigkeit wurde ebenfalls in den Meßzylinder pipettiert und das Ganze auf 30 ml mit physiologischer NaCl aufgefüllt. 2 ml dieser Lösung wurden mit 5 ml 25 %iger Trichloressigsäure enteiweißt und der Filterrückstand mit 5 ml destilliertem H_2O nachgewaschen. Dieses Filtrat wurde in seiner Gesamtheit zur physikalischen Strahlenmessung, ein aliquoter Teil von je 0,5 ml in Doppelproben zur chemischen P-Bestimmung herangezogen.

b. Harn: Nachdem das Volumen der in 24 Stunden gesammelten Harnmenge gemessen worden war, wurde der Harn gründlich gemischt und 10 ml davon direkt, ohne vorherige Veraschung, zur Strahlenmessung herangezogen. Anschließend wurden die 10 ml Harn in einem Kjeldahlkolben eingedampft und mit 10 ml Oxydationsreagenz (ein Gemisch aus 200 ml Perchlorsäure, 150 ml konz. H_2SO_4 und 150 ml Aqua dest.) über kleiner Flamme bis zur klaren Farblosigkeit verascht. Nach dem Erkalten wurde mit konz. Ammoniak neutralisiert, mit Aqua dest. auf 100 ml aufgefüllt und mit 1 ml dieses Aufschlusses in Doppelproben der P-Gehalt ermittelt.

c. Kot: Die 24-Stunden-Menge des Kotes wurde durch Hinzufügen von dest. Wasser und durch gründliches Rühren und Durchpassieren durch ein grobmaschiges Sieb zu einem dünnen Brei aufgearbeitet. In großen Petrischalen wurde dieser Kotbrei im Umlauftrockner bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, anschließend gewogen, in

einer Retschmühle gemahlen und dabei gleichzeitig nochmals gründlich homogenisiert. Von dieser Trocksubstanz wurden 500 mg im Kjeldahlkolben mit 15 ml Oxydationsreagenz verascht. Nach dem Abkühlen wurde nach Zugabe von 30 ml 15 %iger HCl erneut aufgekocht, nach Erkalten mit konz. Ammoniak neutralisiert und mit dest. Wasser auf 100 ml aufgefüllt. In Doppelproben von je 0,5 ml dieses Aufschlusses wurde die chemische P-Bestimmung vorgenommen. Die Aktivitätsbestimmung des Kot-P^{32} wird weiter unten beschreiben.

cc. Vorversuche zur Kotveraschung

Bei ersten Kot-P-Bestimmungsversuchen war nach dem Veraschen von jeweils 500 mg Kothomogenat mit 30 ml Oxydationsreagenz ein trüber Niederschlag festzustellen, der auch nach der Neutralisation mit konz. Ammoniak nicht in Lösung ging. Eine Erhöhung bzw. eine Erniedrigung der Oxydationsreagenzmenge hatte ebenfalls keinen Einfluß auf die Niederschlagsbildung. Daher wurde nach der Neutralisation abfiltriert und im Filtrat die P-Bestimmung durchgeführt. Der Filterrückstand wurde getrocknet, quantitativ in einen Kjeldahlkolben überführt und mit 30 ml 15 %iger HCl zum Sieden gebracht, wobei der Niederschlag in Lösung ging. Nach der Neutralisation wurde erneut die P-Bestimmung mit positivem Ergebnis durchgeführt. In einer zweiten Versuchsreihe wurde gleich nach dem Abkühlen des Veraschungsproduktes mit 30 ml 15 %iger HCl erneut aufgekocht, anschließend neutralisiert und die P-Bestimmung durchgeführt. Der ermittelte P-Gehalt, umgerechnet auf die Koteinwaage, war identisch mit der Summe der P-Menge, die im ersteren Versuch in zwei Arbeitsgängen ermittelt worden war. Da-

her wurde das zweite Verfahren in den Hauptversuchen zur Aufschließung des Kotes für die Kot-P-Bestimmung herangezogen.

d. Chemisch-physikalische Phosphorbestimmung: Die P-Ermittlung erfolgte colorimetrisch nach der von Bartlett (1) ausgearbeiteten Modifikation der P-Bestimmungsmethode von Fiske und Subarow (11) mit dem Unicam-Photometer in Küvetten von 1 cm Schichtdicke.

Als Reagenzien zur P-Bestimmung nach Bartlett wurden pro Probenansatz benötigt:

0,5 ml 10 n H_2SO_4,

4,6 ml 0,22 %ige Ammoniummolybdatlösung,

0,2 ml Fiske- und Subarow-Reagenz;

das letztere bestand aus:

200 ml 15 %iger Natriumbisulfitlösung

0,5 g 1-2-4 Aminonaphtolsulfonsäure und

1,0 g wasserfreiem Natriumsulfit.

Nach dem Abfiltrieren wurde diese Lösung in einer braunen Flasche aufbewahrt und jede Woche neu zubereitet.

Als zu analysierende Probemenge wurden vom TCF bzw. vom Kotaufschluß 0,5 ml + 1,5 ml Aqua dest., vom Harnaufschluß 1,0 ml + 1,0 ml Aqua dest. zupipettiert, so daß das Gesamtvolumen eines Reaktionsansatzes immer 7,3 ml betrug. Nach 7-minütiger Erhitzungdauer im Wasserbad bei 100° C war das Maximum der Blauintensität des Phosphormolybdatkomplexes erreicht.

Das Bartlett'sche Verfahren bringt gegenüber der konventionellen Methode als Vorteile mit sich:

1. Unempfindlichkeit gegen Konzentrationsveränderungen der Reagenzien;

2. Stabilität der maximalen Farbintensität über einen Zeitraum von 24 Stunden bei Zimmertemperatur;

3. Lösungen mit zu hohen Extinktionswerten können durch Verdünnung mit dest. Wasser in den am besten meßbaren Bereich ohne Verlust der Proportionalität gebracht werden.

Das Optimum der Extinktion wurde mit Rotfilter bei λ = 830 mμ erreicht, gemessen gegen den Blindwert des Reaktionsansatzes der zur P-Bestimmung verwandten Reagenzien, plus 2 ml Aqua dest. zur Erhaltung der Volumenkonstanz.

dd. Ermittlung der Regressionskoeffizienten zur colorimetrischen P-Bestimmung

Zur Umrechnung der Extinktionen in μg P pro Reaktionsansatz wurde der Regressionskoeffizient einer Eichkurve berechnet, die durch Herstellung einer Verdünnungsreihe einer Standardlösung von Kalium biphosphoricum nach Sörensen (KH_2PO_4) aufgestellt worden war. Als Regressionskoeffizient wurde 0,0903 ermittelt. Mit diesem Faktor wurden die gemessenen Extinktionen der Hauptversuche multipliziert und dadurch der P-Gehalt der Reaktionsansätze von jeweils 7,3 ml erhalten.

e. Messung der Radioaktivität: Die ß-Strahlung des Radioisotops P^{32} wurde im TCF-Filtrat des Plasmas und im Harn mit dem Zählgerät FH 49 der Firma F r i e s e k e u. H ö p f n e r, Erlangen,

mit angeschlossenem Flüssigkeitszählrohr der Massenbelegung 1,6 mg/cm^2 unter Bleiabschirmung ermittelt. Sowohl Nulleffekt als auch die Proben wurden jeweils 2 x 5 Minuten gemessen. Die ß-Aktivitäten des Kotes wurden direkt aus der Trockensubstanz ohne vorherige Veraschung ermittelt. Dazu wurden genau 2 g homogenisierte Kottrockensubstanz in flache Aluminiumküvetten verbracht und mit dem automatischen Probenwechsler FH 448 als Zusatzgerät zum FH 49 unter ein mit Bleimantel angeschirmtes Glockenzählrohr mit der Massenbelegung von 1,5 mg/cm^2 verbracht. Als zweites Zusatzgerät war in diesem Fall ein Zeitdrucker (FH 449) an das FH 49 angeschlossen, der bei einer Impulsvorwahl von 10^4 oder 10^5 Impulsen die Zeit des Meßvorganges ausdruckte. Die gemessenen Werte wurden unter Berücksichtigung des Nullwertes und der Zerfallsrate auf Impulse pro Minute umgerechnet.

ee. Ermittlung der P^{32}-Meßausbeute bei Aktivitätsbestimmungen aus der Kot-Trockensubstanz

In 5 Reibschalen wurden jeweils 50 g inaktive Kot-Trockensubstanz eingewogen. Von einer P^{32}-Standard-Lösung mit bekannter Aktivität ausgehend, wurden nach Herstellung einer Verdünnungsreihe je 20 ml P^{32}-Lösung in die einzelnen Schalen pipettiert, gründlich homogenisiert und bei 100° C im Trockenschrank bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Anschließend wurden nach erneuter Homogenisierung aus jeder Probe 5 Einzelproben von 2 g in flache Aluminiumküvetten eingewogen und die insgesamt 25 Proben in die auf Seite 35 beschriebene Meßapparatur verbracht und wiederholt vermessen.

Es zeigte sich, daß die gemessenen Impulswerte direkt proportional der zugesetzten Menge von P^{32} waren. Die Meßausbeute wurde aus der vorgelegten P^{32}-Menge und den gemessenen Impulswerten unter Berücksichtigung des Nulleffektes mit 3,91 % berechnet. Zur Ausschaltung von Einflüssen durch Selbstabsorption wurde bei allen Messungen die gleiche Geometrie und Probenmenge von 2 g beibehalten.

f. Bestimmung der Maxima der spezifischen Aktivitäten in Blut, Harn und Kot

Zur Ermittlung des zeitlichen Abstandes der Maxima der spezifischen Aktivitäten in Blut, Harn und Kot wurden im Versuch I 1 Stunde nach der Injektion der P^{32}-Natriumphosphatlösung bei jedem der 5 Tiere die ersten Blutproben entnommen. Weitere Blutentnahmen folgten nach 3, 6 und 9 Stunden post injectionem. Die Aufarbeitung und Messung erfolgte nach den vorher beschriebenen Verfahren. Von dem während dieser Zeit angefallenen Harn eines jeden Tieres wurde unmittelbar nach dem Absetzen das Volumen der jeweils abgesetzten Menge gemessen und ein aliquoter Teil von 10 ml zur Aktivitäts- und P-Bestimmung aufbewahrt.

Der bis zur 9. Std. post injectionem gesammelte Kot wurde als Ganzes bei jedem Tier homogenisiert und nach entsprechender Aufarbeitung der P-Gehalt sowie die Aktivitäten bestimmt. Von diesem Zeitpunkt ab wurde jeweils ein aliquoter Teil des 24-Stunden-Homogenats von jedem Tier zur Aktivitäts- und P-Analyse herangezogen. Es zeigte sich, daß das Maximum der spezifischen Aktivitäten des TCF bei allen 5 Tieren innerhalb der ersten Stunde, das des normal abgegebenen Harnes zwischen 6 und 7 Stunden post injectionem auftrat.

Das Maximum der spezifischen Aktivitäten des Kotes trat bei Schaf Nr.2 und Nr.4 48 Stunden später auf als im TCF und bei Schaf Nr.1, Nr.3 und Nr.5 72 Stunden später (s. Abb. 1).

Daraus ergibt sich für die Berechnung des endogenen Phosphors nach der Formel

$$E = \frac{f_{(t+x)}}{p_{(t)}} \times 100 \qquad [10]$$

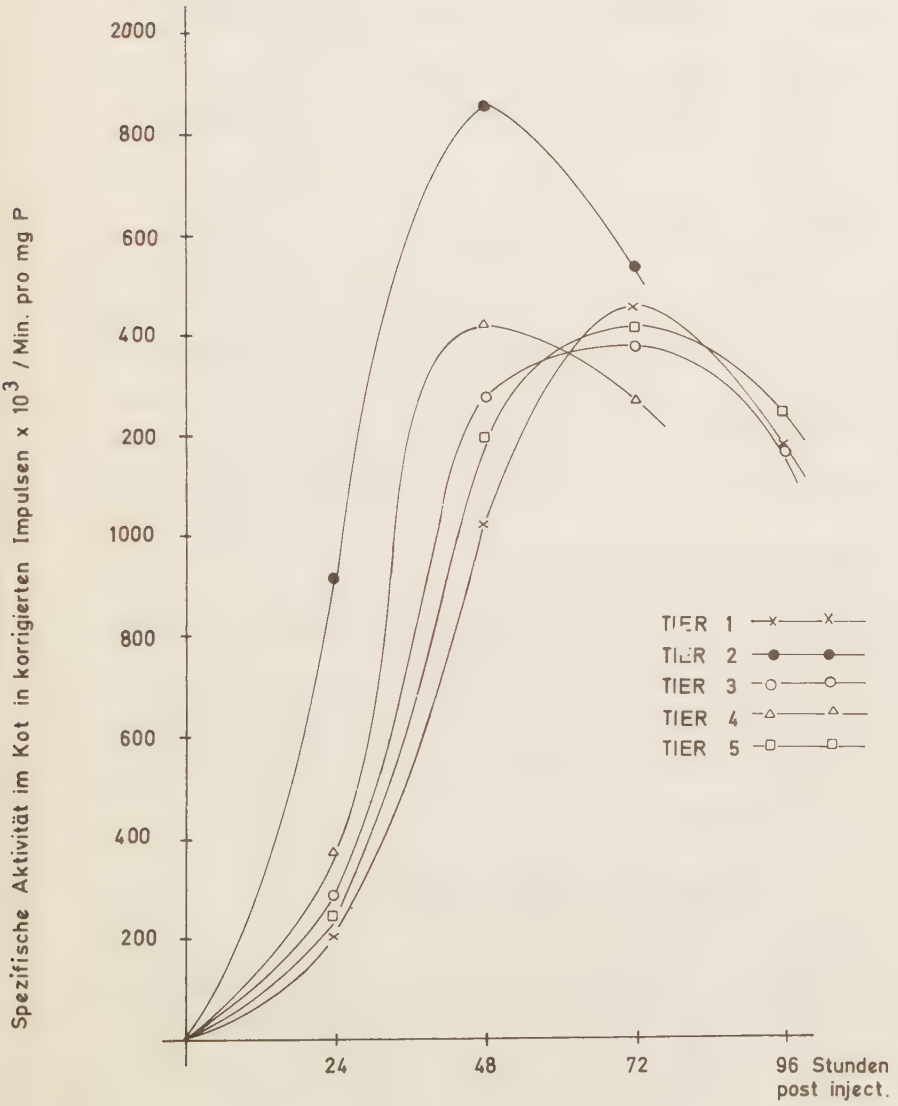
wobei E = endogener Kot-P in % vom Gesamt-Kot-P,
f = spezifische Aktivität des Kotes zur Zeit t + x Tage,
p = spezifische Aktivität des Plasmas zur Zeit t ist,

daß für x bei Schaf Nr.2 und Nr.4 2 Tage, bei Schaf Nr.1, Nr.3 und Nr.5 3 Tage einzusetzen sind. Am Beispiel des Schafes Nr.2 ausgedrückt bedeutet das, daß der TCF-Probe vom 1. Tag der Sammelperiode die Kotprobe, die 2 Tage später gesammelt wurde, zur Berechnung des endogenen Kotes zuzuordnen ist.

g. Statistik der ermittelten Werte

Die statistische Sicherung der ermittelten Ergebnisse erfolgte nach dem t-Test (38). Die Streuung der Versuchsdaten ist in den Tabellen als Standardabweichung der Mittelwerte wiedergegeben.

Abb. 1: MAXIMA DER SPEZIFISCHEN AKTIVITÄTEN IM KOT IN ABHÄNGIGKEIT VON DER ZEIT BEI DEN EINZELNEN TIEREN



E R G E B N I S S E

Da die P-Resorptionsbestimmung mit Hilfe der Isotopenverdünnungsmethode die gleichmäßige Verteilung von injiziertem P^{32} mit dem körpereigenen Phosphor zur Voraussetzung hat, wurden im ersten Versuch Untersuchungen zur Ermittlung des "exchange equilibrium" vorgenommen.

1. Eintritt des "exchange equilibrium"

Es zeigte sich, daß zwischen dem 8. und 17. Tag ein linearer Abfall der spezifischen Aktivitäten in TCF und den dazugehörigen Kotproben vorlag (s. Abb. 2). Daher wurden in den einzelnen Versuchsreihen während dieses Zeitraumes die einander entsprechenden Proben entnommen und der Berechnung der P-Resorption zugrunde gelegt.

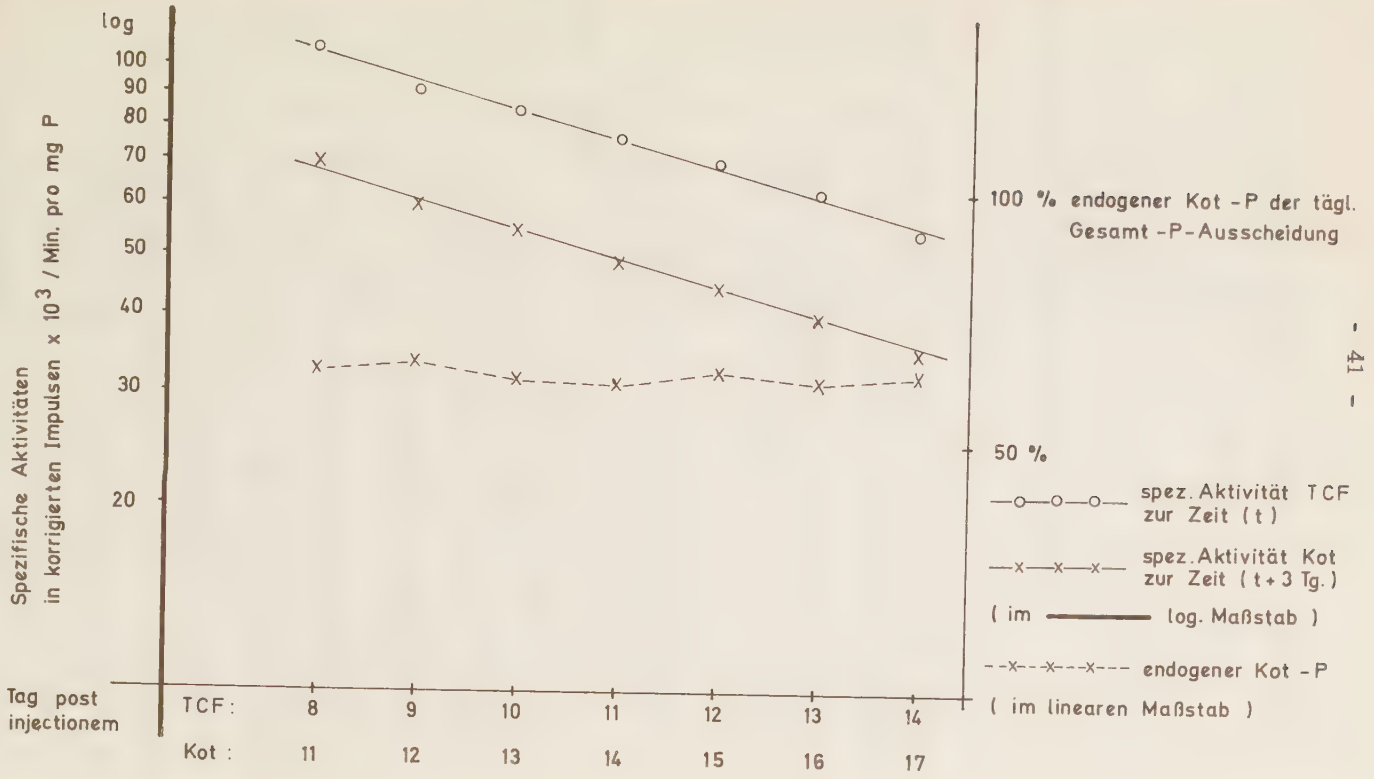
2. Resorptionsquotient der Basaldiät

Im Versuch I wurde ferner der P-Resorptionskoeffizient aus der Basaldiät ermittelt, wobei zur Berechnung des endogenen Kot-Anteils vom Gesamt-Kot-P sowohl hier als auch in den 5 weiteren Versuchen die spezifische Aktivität des TCF als Bezugsgrundlage gewählt wurde. Aus dem Verhältnis

$$\frac{\text{spezifische Aktivität des Kot-P}}{\text{spezifische Aktivität des TCF}} \times 100 \qquad [11]$$

der einander entsprechenden Proben ist der endogene Kot-P-Anteil mit 61,8 % oder 1,42 g/Tier und Tag bei einer durchschnittlichen Gesamt-Kot-P-Ausscheidung von 2,29 g/Tier und Tag ermittelt worden.

Abb. 2: ABFALL DER SPEZIFISCHEN AKTIVITÄTEN IM TCF UND KOT
VERSUCH I, SCHAF NR. 1



Der Resorptionskoeffizient R wurde nach der Gleichung

$$R = \frac{a - (b - c)}{a} \times 100 \qquad [12]$$

berechnet, wobei a = die tägliche Gesamt-P-Aufnahme in g,

b = die tägliche Gesamt-Kot-P-Ausscheidung in g,

c = den täglichen endogenen P-Anteil vom Gesamt-Kot-P

darstellten.

Für die Basaldiät betrug der durchschnittliche P-Resorptionskoeffizient R = 56,5 %, d.h. von den 2 g P, die in der Basaldiät enthalten waren, wurden im Durchschnitt 1,12 g P/Tier und Tag resorbiert. Die Einzelwerte der 5 Versuchstiere sind in Tab. 1 zusammengestellt.

3. Resorptionsquotienten der einzelnen getesteten P-Präparate

Die Ergebnisse der 5 weiteren Versuche, in denen jedes Phosphorpräparat an jedes Schaf verfüttert worden war, sind unter Berücksichtigung der Tatsache berechnet worden, daß eine P-Resorption nicht nur aus den zugesetzten Phosphorverbindungen stattfindet, sondern ebenso aus der Basaldiät.

Nach der Methode von Lofgreen (30) wird von der nach Abzug des endogenen Kot-P vom Gesamt-Kot-Phosphor verbleibenden P-Menge (= exogener P) der nicht resorbierte P-Anteil der Basaldiät substrahiert. Die danach verbleibende P-Menge stellt den tatsächlich unresorbiert gebliebenen P-Anteil des zugesetzten Phosphorpräparates dar.

Am Beispiel des Schafes Nr. 1 soll der Rechnungsgang verdeutlicht werden:

Das Schaf Nr. 1 nahm im 2. Versuch insgesamt 6,0 g P mit der Nah-

Tabelle 1

Basaldiät: Berechnung der wahren Resorption = Resorptionskoeffizient,

nach der Formel $R = \frac{a - (b - c)}{a} \times 100$ (Erklärung s. S. 42)

Versuch	Tier Nr.	Anzahl d.entnomm. Proben	a	b		c	b - c	a - (b - c)	$\frac{a - (b - c)}{a} \times 100$
			tägl.P-Aufnahme in g	tägl.Gesamt-Kot-P-Ausscheidung in g	endogener Kot-P in %	endogener Kot-P pro Tag in g	exogener (= unresorbierter) P pro Tag in g	tatsächlich resorbierte P-Menge pro Tag in g	wahre Resorption des Futter-P in % (= Resorptionskoeffizient)
I	1	7	2,00	2,51	63,4	1,62	0,89	1,11	55,5
	2	7	2,00	2,05	62,2	1,28	0,77	1,23	61,5
	3	7	2,00	2,15	63,4	1,36	0,79	1,21	60,5
	4	7	2,00	2,45	62,4	1,53	0,92	1,08	54,0
	5	7	2,00	2,31	57,4	1,33	0,98	1,02	51,0
Mittelwerte				2 29	61,8	1,42	0,87	1,12	56,5 ± 3,4

rung pro Tag auf, wovon 4,0 g aus dem Phosphorpräparat 1 stammten. Die Gesamt-Kot-P-Ausscheidung betrug täglich im Mittel 5,12 g, der endogene Kot-P wurde mit durchschnittlich 2,90 g ermittelt. Die Differenz aus beiden Größen beträgt 2,22 g (= exogener Phosphor). Von diesen 2,22 g wird der nicht resorbierte P-Anteil der Basaldiät von 0,89 g (siehe Tab. 1) abgezogen, die verbleibende P-Menge von 1,33 g stellt den P-Anteil dar, der von den 4 g P des Supplements nicht resorbiert worden ist. Aus der Differenz 4,00 g - 1,33 g ergibt sich somit die tatsächlich resorbierte P-Menge von 2,67 g oder 69,25 %.

Die an jedem der 5 Tiere bestimmten Resorptionskoeffizienten wurden aus den Mittelwerten der Einzelversuche berechnet und als Ergebnisse erhalten:

Für Verbindung 1, Dicalcium-Phosphat		R = 68,5 % ± 3,3
" " 2, "	40 %	R = 67,7 % ± 4,2
" " 3, Knochenfuttermehl		R = 59,2 % ± 2,7
" " 4, Knochenfutterschrot		R = 58,2 % ± 9,4
" " 5, Belg. Dicalcium-Phosphat		R = 68,8 % ± 2,5

Eine Übersicht über die Einzelwerte ist in Tab. 2 gegeben.

Um die Differenz aufzuzeigen, die entsteht, wenn die Berechnung der einzelnen Resorptionskoeffizienten ohne Berücksichtigung desjenigen P-Anteils erfolgt, der aus der Basaldiät resorbiert wird, sind in Tab. 3 die Werte der einzelnen Versuche angegeben, die ohne diese Korrektur berechnet wurden.

Tabelle 2

Durchschnittliche Resorptionswerte der einzelnen getesteten P-Verbindungen

				1	2	3	4	5
			saldiät	Dicalcium-phosphat	Dicalcium-phosphat 40 %	Knochen-futtermehl	Knochen-futter-schrot	Belgisches Dicalcium-phosphat
	Phosphor-Aufnahme							
1	a) Basaldiät	g/Tag	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
2	b) aus dem P-Zusatz	g/Tag	-	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
3	c) aus der Gesamtration	g/Tag	2,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
4	Gesamt-Kot-P	g/Tag	2,29	4,90	5,20	5,00	5,10	4,65
5	scheinbar resorbierter P	g/Tag	-	1,10	0,80	1,00	0,90	1,35
6	scheinbare "Verdaulichkeit"	%	-	18,30	13,30	16,70	15,00	22,50
7	endogener Kot-P	%	61,89	56,50	58,20	50,00	50,20	54,50
8	endogener Kot-P	g/Tag	1,42	2,77	3,02	2,50	2,56	2,53
	nicht resorbierter Phosphor							
9	a) aus der Gesamtration	g/Tag	0,87	2,13	2,18	2,50	2,54	2,12
10	davon sind aus Basaldiät	g/Tag	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87
11	P-Zusatz	g/Tag	-	1,26	1,29	1,63	1,67	1,25
12	resorbierter P aus dem P-Zusatz	g/Tag	-	2,74	2,71	2,37	2,33	2,75
13	aus der Gesamtration resorb. P	g/Tag	0,87	3,87	3,82	3,50	3,46	3,88
14	Wahre "Verdaulichkeit" des Zusatz-P (= R)	%	-	68,50	67,70	59,20	58,20	68,80

Diese Werte, mit R = 64,5 % ± 1,4 für Verbindung 1

R = 63,6 % ± 1,5 für Verbindung 2

R = 58,3 % ± 1,6 für Verbindung 3

R = 57,6 % ± 6,8 für Verbindung 4

R = 64,6 % ± 0,4 für Verbindung 5

zeigen deutlich, wie sehr die Nichtberücksichtigung des aus der Basaldiät resorbierten P-Anteils ins Gewicht fällt.

4. Aktivitätsverhältnisse in TCF und Harn

Neben der Bestimmung der spezifischen Aktivitäten im TCF erfolgte im Versuch I und III auch die Analytik und Vermessung der Harnproben vom 8. - 14. Tag post injectionem. Eine Übereinstimmung der spezifischen Aktivitäten von TCF und Harn konnte nicht festgestellt werden.

Setzt man die jeweilige durchschnittliche spezifische Aktivität der Einzeltiere über die Dauer eines Versuches gleich 100 % und vergleicht damit die spezifische Aktivität des Harnes, so weist der Harn ein höheres Markierungsverhältnis auf.

Im Versuch I liegen die Werte der einzelnen Tiere zwischen 4,3 % und 15,5 % höher als im TCF, im Versuch III liegen die spezifischen Aktivitäten des Harnes zwischen 12,6 % und 16,1 % über denjenigen des TCF (siehe Abb. 3).

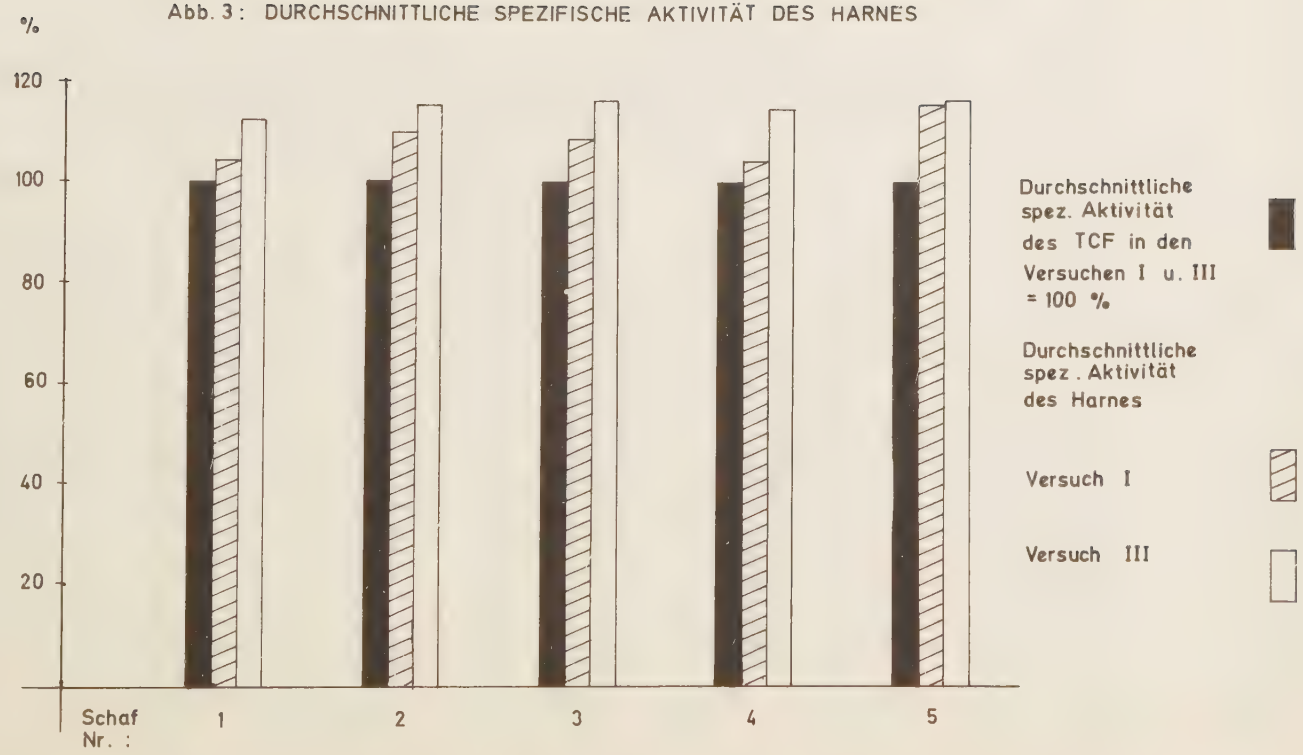
Tabelle 3

Ergebnisse der Einzelversuche und Berechnung der Resorptionskoeffizienten der 5 P-Verbindungen ohne Berücksichtigung der P-Resorptionsquote aus der Basaldiät nach der Formel

$$R = \frac{a - (b - c)}{a} \times 100$$

			a	b		c	b – c	a – (b – c)	$\frac{a - (b - c)}{a} \times 100$
Versuch Nr.	getestete P-Verbind.	Schaf Nr.	tägliche P-Aufnahme in g	tägl. Gesamt-Kot-P-Ausscheidung in g	endogener Kot-P pro Tag in %	endogener Kot-P pro Tag in g	exogener Kot-P pro Tag in g	tatsächlich resorb. P pro Tag in g	R in %
II	1	1	6 g	5,12	56,60	2,90	2,22	3,78	63,00
		2		4,90	58,80	2,88	2,02	3,98	66,30
		3		4,69	52,30	2,45	2,24	3,76	62,60
		4		5,03	58,60	2,95	2,08	3,92	65,30
		5		4,76	56,10	2,67	2,09	3,91	65,10
		Mittelwerte		4,90	56,50	2,77	2,13	3,87	64,50
		Standard-abweichung		± 0,18	± 2,62	± 0,21	± 0,10	± 0,10	± 1,40
III	2	1	6 g	5,68	59,70	3,39	2,29	3,71	61,80
		2		4,62	52,40	2,42	2,20	3,80	63,30
		3		5,22	56,90	2,97	2,25	3,75	62,50
		4		5,38	61,40	3,30	2,08	3,92	65,30
		5		5,10	59,20	3,02	2,08	3,92	65,30
		Mittelwerte		5,20	58,20	3,02	2,18	3,82	63,60
		Standard-abweichung		± 0,39	± 3,49	± 0,38	± 0,06	± 0,09	± 1,47
IV	3	1	6 g	5,10	53,50	2,73	2,37	3,63	60,50
		2		5,27	51,90	2,73	2,55	3,45	57,50
		3		4,62	47,40	2,19	2,43	3,57	59,50
		4		4,93	48,50	2,39	2,54	3,46	57,60
		5		5,08	48,70	2,47	2,61	3,39	56,50
		Mittelwerte		5,00	50,00	2,50	2,50	3,50	58,30
		Standard-abweichung		± 0,25	± 2,56	± 0,23	± 0,10	± 0,10	± 1,63
V	4	1	6 g	6,38	50,20	3,20	3,18	2,82	47,00
		2		4,08	49,80	2,03	2,05	3,95	65,80
		3		4,82	51,20	2,47	2,35	3,65	60,80
		4		5,37	51,40	2,76	2,61	3,39	56,50
		5		4,85	48,20	2,34	2,51	3,49	58,10
		Mittelwerte		5,10	50,20	2,56	2,54	3,46	57,64
		Standard-abweichung		± 0,85	± 1,28	± 0,44	± 0,42	± 0,42	± 6,80
VI	5	1	6 g	4,76	55,00	2,62	2,14	3,86	64,30
		2		4,67	54,20	2,53	2,14	3,8	64,40
		3		4,53	54,10	2,45	2,08	3,92	65,30
		4		4,62	53,90	2,49	2,13	3,87	64,50
		5		4,67	54,80	2,56	2,11	3,89	64,80
		Mittelwerte		4,65	54,50	2,53	2,12	3,88	64,60
		Standard-abweichung		± 0,08	± 0,43	± 0,07	± 0,03	± 0,05	± 0,41

Abb. 3: DURCHSCHNITTLICHE SPEZIFISCHE AKTIVITÄT DES HARNES



D I S K U S S I O N

1. Zur Methodik

Mit Hilfe der Isotopenverdünnungsmethode läßt sich eine getrennte Erfassung des endogenen und exogenen Kot-P durchführen. Die Höhe des endogenen Kot-P-Anteils kann dann berechnet und somit die Größe des nicht resorbierten(= exogenen)P-Anteils bestimmt werden. Die Methode basiert auf der Markierung des körpereigenen "P-pools" mit dem Radioisotop P^{32} und hat zur Voraussetzung, daß eine gleichmäßige Verteilung des parenteral zugeführten Isotops im "P-pool" des Organismus stattfindet. Dieses "exchange equilibrium" kann aus den spezifischen Aktivitäten eines Bezugssystems, im vorliegenden Falle des TCF, und denjenigen des Kotes bestimmt werden.

Um aber eine entsprechende Zuordnung der TCF und Kotproben zu ermöglichen, ist die Kenntnis des zeitlichen Abstandes der spezifischen Aktivitäten in TCF und Kot notwendig. Wie ie Ergebnisse zeigen, ist dieser Abstand nicht bei allen Tieren der gleiche, sondern schwankt zwischen 2 und 3 Tagen. Andere Autoren (29, 30) fanden einen Abstand von 1 - 2 Tagen. Es ist daher notwendig, bei einer Versuchsreihe die zeitliche Verschiebung der Maxima bei jedem einzelnen Tier zu ermitteln. Ist somit die Zuordnung der entsprechenden Proben bekannt, so liegt das "exchange equilibrium" dann vor, wenn ein gleichmäßiger Abfall der spezifischen Aktivitäten des TCF und des Kotes festzustellen ist.

Wie aus Abb. 2 ersichtlich, weisen die spezifischen Aktivitäten im

TCF zwischen dem 8. und 14. Tag und die des dazugehörigen Kotes zwischen dem 11. und 17. Tag einen nahezu parallelen Verlauf, d.h. den gleichen Abfall auf. Bei gleichbleibender qualitativer und quantitativer P-Zufuhr mit der Nahrung ist der endogene Kotanteil während dieser Zeitspanne konstant. Diese Ergebnisse stimmen mit den Untersuchungen von Lofgreen - Kleiber (29) und Lörcher (31, 32) gut überein. Neben den spezifischen Aktivitäten des TCF verwendeten Lueker und Lofgreen (34) bei weiteren P-Resorptionsstudien an Schafen zur Berechnung des endogenen Kot-P auch die spezifischen Aktivitäten des Speichels, da beide Körperflüssigkeiten das gleiche Markierungsverhältnis und den gleichen Aktivitätsabfall aufwiesen. Sollten sich diese Befunde bei weiteren Untersuchungen bestätigen, dann könnte in Zukunft durch Anlegen einer Speichelfistel für länger dauernde P-Resorptionsstudien auf die täglichen Blutentnahmen verzichtet werden.

Die von Seuss (38) gefundene Übereinstimmung von TCF und Harn bereits 8 Tage post injectionem bei Schafen konnte nicht bestätigt werden. Die Ergebnisse stimmen vielmehr mit denen von Lofgreen - Kleiber (29) und Lörcher (32) überein, die im Harn ab dem 7. Tag post injectionem höhere spezifische Aktivitäten als im TCF vorfanden.

Aus den eigenen Versuchen wird ersichtlich, daß die spezifischen Aktivitäten des Harnes vom 8. bis 14. Tag nach der P^{32}-Applikation bei den einzelnen Tieren um 4,2 bis 15,5 % im Versuch I und im Versuch III um 12,6 bis 16,6 % höher liegen als die des TCF. Diese großen Unterschiede werfen erneut die Frage auf, welches Bezugs-

system zur Berechnung des endogenen Kot-P-Anteils das richtige ist. Diese Frage könnte erst geklärt werden, wenn die chemische Zusammensetzung des endogenen Kot-P bekannt wäre, um damit zu wissen, aus welchen der im Organismus vorhandenen Verbindungen er hervorgeht. Gliche die Zusammensetzung mehr dem Blutplasma, dann ist zu erwarten, daß auch das Markierungsverhältnis identisch ist. Wäre der endogene Kot-P der Harn-P-Zusammensetzung ähnlicher, dann dürfte er auch deren Markierungsverhältnis am nächsten kommen. Solange diese Fragen nicht geklärt sind, wird immer ein Unsicherheitsfaktor bei der Ermittlung des endogenen Kot-P-Anteils bestehen.

Berechnet man den endogenen Kotanteil einmal unter Bezugnahme auf TCF und zum anderen auf den Harn, z. B. bei Schaf Nr. 1 im Versuch I, so ergeben sich mit 63,4 % und 60,25 % keine allzu großen Unterschiede. Diese Differenz hat aber bereits einen entscheidenden Einfluß auf die Größe des Resorptionskoeffizienten. Er beträgt im ersten Fall 55,5 % und im zweiten 50,0 %, womit die Abweichung bereits 11 % ausmacht. Betrachtet man aber den Extremfall des Versuches I bei Schaf Nr. 5, bei dem die spezifischen Aktivitäten von TCF und Harn um 15,5 % differieren, und berechnet hier den endogenen Kotanteil, einmal auf der Basis des TCF und zum anderen aus dem Harn, so zeigen die ermittelten Werte von 57,4 % und 48,5 % eine erhebliche Differenz, die erst recht im Resorptionskoeffizienten zum Ausdruck kommt. Bei Verwendung des TCF als Bezugsgrundlage beträgt er 51,0 %, auf der Basis des Harnes berechnet aber 43,8 %; das ergibt eine Abweichung von 14,1 %! Aus den berechneten Beispielen kann man ersehen, daß der Fehler

umso größer wird, je größer die Differenz zwischen den spezifischen Aktivitäten des TCF und des Harnes ist.

In den eigenen Berechnungen wurde das TCF als Bezugsgrundlage zur Bestimmung des Resorptionskoeffizienten aus mehreren Gründen gewählt. Die spezifischen Aktivitäten von TCF und Kot wiesen während der Sammelperiode einen gleichmäßigen Abfall auf, wohingegen der Harn unregelmäßige Schwankungen zeigte. Zum anderen sind Hinweise darauf vorhanden (37), daß die aus dem Blut in den Darm sekretierte Phosphorkomponente in ihrer chemischen Zusammensetzung eher dem Blutplasma gleicht als der Harn-Phosphor-Zusammensetzung und daher dem Markierungsverhältnis des Plasmas näherkommt als dem des Harnes. Werden ferner die in der Literatur (11, 12, 14) angeführten neueren Untersuchungen über die 2 Fraktionen unterschiedlich schnell austauschbarer P-Komponenten im Plasma berücksichtigt, dann ist es erklärlich, daß der Harn zu einem relativ frühen Zeitpunkt nach der P^{32}-Applikation ein höheres Markierungsverhältnis ausweist als das TCF, da im Nierensekret vorwiegend anorganische, durch das "Darmsekret" jedoch sicherlich überwiegend organische P-Verbindungen ausgeschieden werden.

Umso überraschender sind die Ergebnisse von Lantzsch et al. (23), die entsprechende Untersuchungen beim Schwein durchführten. Bei dieser Tierart lagen die spezifischen Aktivitäten des TCF immer höher - selbst nach 26 Tagen post injectionem noch 4 % - als die des Harnes. Somit scheint hier genau das entgegengesetzte Markierungsverhältnis wie bei den Wiederkäuern vorzuliegen, wie aus den Versuchen von Lofgreen, Kleiber (29) und Lörcher (32) sowie den eigenen Ergebnissen hervorgeht.

Aufgrund dieser Befunde müßte angenommen werden, daß bei der Tierart Schwein hinsichtlich der P-Sekretion über Niere und Darm ein grundsätzlich anderer Mechanismus wie bei Wiederkäuern besteht. Nach weiteren Untersuchungen am Schwein (24) wird daher vorgeschlagen, bei Benutzung des Harnes als Bezugsbasis zur Ermittlung des endogenen Kot-P höhere P^{32}-Mengen zu injizieren, um damit der relativ kurzen Halbwertszeit des P^{32} Rechnung zu tragen und mit der Probensammlung frühestens ab dem 30. Tag post injectionem zu beginnen.

Die Ermittlung des endogenen Kot-P unter Zugrundelegung der spezifischen Aktivitäten des TCF als Bezugsbasis hat neben der Möglichkeit des frühen Versuchsbeginns den weiteren methodischen Vorteil, daß auch bei weiblichen Tieren die P-Resorptionsquotienten leicht zu ermitteln sind. In den bisherigen Versuchen, bei denen vergleichsweise Untersuchungen des Harnes durchgeführt worden sind, sind meist nur männliche Tiere herangezogen worden, da es bei weiblichen über längere Versuchsperioden schwierig wird, den Harn quantitativ zu sammeln und eine Verunreinigung durch Kot schwer auszuschalten is

Die geringe Phosphorausscheidung bei Wiederkäuern im Harn von weniger als 1 % der Gesamtausscheidung, im vorliegenden Falle 0,36 % im Versuch I und 0,43 % im Versuch III, bestätigt die von früheren Untersuchern (31, 12) gemachten Erfahrungen, daß beim Wiederkäuer die Phosphorexkretion nur in ganz geringem Umfang durch den Harn erfolgt. Da diese geringen Mengen innerhalb der Fehlergrenze einer Gesamt-P-Bilanzaufstellung liegen, können sie unberücksichtigt bleiben, wodurch sich die Analysenzahl einer P-Bilanzerstellung wesentlich verringert.

2. Zu den Ergebnissen

In der vorliegenden Arbeit sind 5 P-Präparate auf ihre Brauchbarkeit als Mineralstoffsupplemente für Wiederkäuer geprüft worden, wobei jedes P-Präparat an jeweils 5 Hammeln in 5 Reihenversuchen zum Einsatz kam. Als wichtigstes Kriterium zur Ermittlung der Brauchbarkeit von Mineralverbindungen gilt, abgesehen davon, daß sie keine toxischen Nebenwirkungen haben dürfen, deren Resorbierbarkeit, die mit Hilfe der Isotopenverdünnungsmethode ermittelt worden ist.

Die gefundenen Werte von 68,5 %, 67,7 % und 68,8 % für die drei getesteten Dicalciumphosphate zeigen, daß sie praktisch den gleichen ernährungsphysiologischen Wert haben. Verglichen mit den Resorptionsquoten, die von anderen Autoren (30, 31, 32) für Dicalciumphosphate bei Schafversuchen gefunden wurden und die zwischen 47,5 % und 86 % schwanken, ergibt sich daraus, daß trotz der chemisch gleichen Struktur der Verbindungen große Unterschiede in der Resorption bestehen. Die in der Literatur angegebenen Werte können allerdings nur bedingt mit den eigenen Werten verglichen werden, da dort meist die Berechnung des Resorptionskoeffizienten ohne Berücksichtigung der P-Resorption aus der Basaldiät erfolgte. Aber selbst bei Berücksichtigung des letztgenannten Kriteriums verbleiben große Unterschiede, die mit dem individuellen Resorptionsvermögen von Einzeltieren innerhalb einer Tierart allein nicht zu erklären sind. Es ist daher die Forderung von Lörcher (32) zu unterstreichen, der eine Standardisierung der Versuchsanordnung und -durchführung für vergleichende Resorptionsbestimmungen aus Mineralverbindungen für unumgänglich erachtet, ehe die von den verschiedensten Autoren ermittelten Resorptionskoeffizienten miteinander verglichen werden können.

Die Resorptionsquotienten von Knochenfuttermehl mit 59,2 % und Knochenfutterschrot mit 58,2 % sind signifikant niedriger als die der 3 anderen anorganischen P-Präparate. Diese Ergebnisse stehen ebenfalls mit früheren in der Literatur (40, 30) beschriebenen Befunden in Übereinstimmung, wonach Knochenfuttermehle und Knochenfutterschrote von Wiederkäuern schlechter resorbiert werden als Dicalciumphosphate.

Abschließend betrachtet kann die Isotopenverdünnungsmethode als das zur Zeit am besten geeignete Verfahren zur Ermittlung der Resorptionsquotienten für Phosphor sowohl aus dem Grundfutter als auch aus Mineralsupplementen angesehen werden. Dennoch bleiben einige Probleme offen. So kann die Frage, welches Bezugssystem für die Berechnung des endogenen Kot-P als das allein gültige anzuwenden ist, erst dann eindeutig entschieden werden, wenn die chemische Zusammensetzung der endogenen Kot-P-Verbindungen aufgeklärt und damit eine einwandfreie Zuordnung zu der ihnen am nächsten kommenden Körperflüssigkeit möglich ist. Problematisch ist ferner, ob die bei den einzelnen Tierarten unter Zugrundelegung der spezifischen Aktivitäten in Blutplasma, TCF oder Harn zur Berechnung des endogenen Kot-P ermittelten Resorptionsquotienten unbedingt miteinander verglichen werden können. Da zwischen verschiedenen Tierarten hinsichtlich der P-Sekretion über Niere und Darm grundsätzliche Unterschiede bestehen - wie bereits aufgezeigt wurde - muß die Vergleichbarkeit in weiteren Experimenten geprüft werden.

Nachdem seit Jahren intensiv an der Bestimmung des P-Resorptionsquotienten aus Phosphorverbindungen gearbeitet worden ist, liegt

es nahe, die Ergebnisse dieser Untersuchungen für die Praxis der Mineralstoffbewertung einzusetzen. So könnte es wünschenswert erscheinen, bei handelsüblichen Mineralstoffverbindungen neben die heute übliche Angabe des Gesamtgehaltes an Phosphor als P_2O_5 in % die tatsächliche Resorbierbarkeit des Phosphors bei der jeweiligen Tierart treten zu lassen. Eine derartige Forderung würde indessen den physiologischen Status des P-Stoffwechsels beim Einzeltier außer Acht lassen. Wie anhand der Literatur aufgezeigt wurde, hängen die Resorption und Sekretion von Phosphorverbindungen maßgeblich von P-Versorgung und -bedarf des Organismus ab. Der P-Stoffwechsel ist dynamischer Natur, er steht in enger Beziehung zum Ca-Stoffwechsel und unterliegt der endokrinen Steuerung von Seiten der Nebenschilddrüsen. Aus diesen Gründen besteht zur Zeit keine andere Möglichkeit, als die Angabe des Gesamtgehalts an Phosphor in Mineralstoffverbindungen beizubehalten und den Resorptionsquotienten in genau kontrollierten Versuchen zu ermitteln, um ihn als wichtiges Kriterium bei der Mineralstoffbewertung mit heranzuziehen.

Da der Bedarf an Phosphorverbindungen zur Futtermittel-Supplementierung zunimmt und laufend neue P-Präparate dazu herangezogen werden, ist die Ausarbeitung einer Standardmethode zur Testung dieser Verbindungen als unumgänglich anzusehen. Die Versuchsanstellung von Lofgreen (30) sowie dessen Berechnungsmodus der P-Resorptionsgröße unter Berücksichtigung der P-Resorption aus der Basaldiät bieten dafür eine geeignete Ausgangsbasis.

Z U S A M M E N F A S S U N G

1. Anhand der Literatur werden die Methoden erörtert, die zur quantitativen Resorptionsbestimmung von Phosphor aus dem Grundfutter und aus P-Supplementen Anwendung fanden. Da bei Wiederkäuern die P-Ausscheidung hauptsächlich durch den Darm erfolgt, läßt sich die tatsächliche Resorptionsgröße ("wahre Verdaulichkeit") nur durch eine Fraktionierung des Kot-Phosphors in einen endogenen und einen exogenen Anteil ermitteln.

2. Diese Fraktionierung wird am genauesten durch Markierung des Stoffwechselphosphors mit parenteral appliziertem Radiophosphor (P^{32}) erreicht, ein Verfahren, das als "Isotopenverdünnungsmethode" heute in verschiedenen Modifikationen angewandt wird. Auf die bedingte Anwendbarkeit dieser Methode zur vergleichenden P-Resorptionsbestimmung beim Schwein und bei Wiederkäuern sowie auf Divergenzen in der zeitlichen Verschiebung der Markierungsverhältnisse in Blutplasma und Harn wird hingewiesen.

3. Die Verfahrenstechnik der Isotopenverdünnungsmethode konnte durch eigene Untersuchungen in einzelnen Punkten vervollständigt werden. Mit dieser Methode wurde in Modellversuchen an 5 kastrierten männlichen Schafen die P-Resorption aus 5 verschiedenen P-Supplementen unter Berücksichtigung der P-Resorption aus dem Grundfutter ermittelt.

4. Mit einer P-armen, sonst aber ernährungsphysiologisch vollwertigen Basaldiät, die pro Tagesration 2 g P enthielt, wurden zu-

sätzlich 4 g pro Tag aus den zu testenden P-Präparaten von jedem Tier aufgenommen.

5. Die 3 getesteten Dicalciumphosphate zeigten hinsichtlich der Resorbierbarkeit mit R = 68,5 %, R = 67,7 % und R = 68,8 % keine ernährungsphysiologischen Unterschiede.

6. Knochenfuttermehl und Knochenfutterschrot wurden dagegen von denselben Tieren mit R = 59,2 % und R = 58,2 % geringgradiger resorbiert.

7. Der Phosphor der Basaldiät wurde im Durchschnitt zu 56,5 % resorbiert: verglichen mit den Resorptionsquotienten der verschiedenen Dicalciumphosphate wird erneut bestätigt, daß der Phosphor aus mineralischen P-Supplementen besser resorbiert wird als aus vegetabilen P-Quellen. Die Unterschiede in der P-Resorption aus Knochenfuttermehl bzw. -Schrot und aus der Basaldiät sind nicht signifikant.

8. Die Erarbeitung einheitlicher Standardverfahren zur Ermittlung der wahren P-Verdaulichkeit unter Berücksichtigung der Tierart wäre wünschenswert.

SUMMARY

1. A review on methods is given which have been used for the quantitative evaluation of phosphorus absorption both from basal rations and dietary phosphorus supplements. Since in ruminants phosphorus is mainly excreted by the intestinal tract, the actual magnitude of absorption (or "true digestibility") can only be determined by fractionating the fecal phosphorus into endogenous and exogenous fractions.

2. This fractionation is most accurately achieved by marking the metabolic phosphorus with parenterally injected radio-phosphorus (P^{32}) - a technique which today is generally applied in various modifications as "isotope dilution method". Factors limiting the applicability of this method in comparative absorption studies with pigs and ruminants are indicated as well as temporal divergencies in the marking ratio of blood plasma and urin.

3. After certain technical improvements the isotope dilution method was used for studies with five castrated male sheep on the phosphorus absorption from five P-supplements and from the basal diet.

4. With a basal diet low in phosphorus but otherwise dietary adequate providing 2 g P in the daily ration the animals consumed in addition 4 g P per day from the respective P-supplements.

5. Three dicalcium phosphate supplements with phosphorus absorption values of 68,5 %, 67,7 % and 68,8 % showed no nutritional differences.

6. With supplements of steamed bone meal and ground raw bone the absorption of phosphorus by the same animals was lowered to 59,2 % and 58,2 %, respectively.

7. The absorption of phosphorus from the basal diet averaged 56,5 %; as compared to the dicalcium phosphate supplements it is confirmed that phosphorus absorption is more effective from mineral than from vegetable sources. Differences in the phosphorus absorption from steamed bone meal, ground raw bone and from the basal diet, respectively, were not significant.

8. The elaboration of standard procedures for evaluating the true phosphorus digestibility in different animal species is regarded desirable.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Bartlett G. R.: Phosphorus assay in column chromatography.
J. biol. Chem. 234, 466, 1959.

2. Bergein O.: A method for the study of food utilization or digestibility.
J. biol. Chem. 70, 29, 1926.

3. Bergein O.: A method for the study of absorption in different parts of the gastro-intestinal tract.
J. biol. Chem. 70, 47, 1926.

4. Bergein O.: The absorption of Calcium and Phosphorus in small and large intestines.
J. biol. Chem. 70, 51, 1926.

5. Bootz H.: Studien über den Phosphorstoffwechsel des wachsenden Schweines.
Diss. med. vet., München 1962.

6. Brüggemann,J.; K. Bronsch: Studie zur Verwendung von Thomasmehl als Mineralfutter.
Zeitschrift für Tierphysiologie, Tierernährung und Futtermittelkunde 14, 93, 1959.

7. Brüggemann J., K. Bronsch, K. Lörcher, H. Senss: Die Bestimmung der Phosphorresorption aus Mineralfuttern.
Zeitschrift für Tierphysiologie, Tierernährung und Futtermittelkunde 14, 224, 1959.

8. Chiewitz O., G. Hevesy: Radioactive indicators in the study of Phosphorus metabolism in rats.
Nature 136, 754, 1935.

9. Cohn W. E., D. M. Greenberg: Studies in mineral metabolism with the aid of artificial radioisotopes.
I. Absorption, distribution and excretion of Phosphorus.
J. biol. Chem. 123, 185, 1938.

10. Comar C. L., R. A. Monroe, W. G. Visek, S. L. Hansard: Comparison of two isotope methods for determination of endogenous fecal Calcium.
J. Nutr. 50, 459, 1953.

11. Fiske C. H., J. Subbarow: The colorimetric determination of Phosphorus.
J. biol.Chem. 66, 375, 1925.

12. Forbes E. B., J. A. Schulz, C. H. Hunt, A. R. Winter, R. F. Remler: The mineral metabolism of the milk-cow.
J. biol. Chem. 52, 281, 1922.

13. Friedlander H. D., W. S. Wilde: Testing blood plasma to tissue exchange rate by urine ratio: inorganic phosphate.
Am. J. Physiol. 164, 169, 1951.

14. Fuchs A. R., F. Fuchs: Investigations on the plasma phosphate. I. The renal excretion of phosphate in guinea-pig.
Acta physiol. Scand. 30, 191, 1954.

15. Giese W., Comar C. L.: Existance of non-exchangeable Calcium compartments in plasma.
Nature 203, 31, 1964.

16. Govaerts,J.: Etat physico-chimique des ions PO_4 et Ca dans le plasma étudié en utilisant simultanément le P^{32} et la Ca^{45}. Validité de la methode des indicateurs isotopiques.
Arch. intern. physiol. 60, 166, 1952.

17. Grau C. R., P. A. Zweigart: Phosphatic clay as a Phosphorus source for chicks.
Poul. Sci. 32, 500, 1953.

18. Hansard S. L., C. L. Comar, M. P. Plumlee, C. S. Hobbs: Integration of concurrent chemical and radioisotope balance trial for the interpretation of Calcium metabolism studies.
J. dairy Sci. 34, 508, 1951.

19. Henry K. M., S. K. Kon: Studies on the metabolism of Calcium and Phosphorus and the availability of these elements from milk and from inorganic source.
Biochem. J. 33, 173, 1933.

20. Hevesy G., L. Hahn, O. Rebbe: Excretion of Phosphorus.
Biolog. Meddelelser XIV, 3, 1939.

21. Kjerulf-Jensen K.: Excretion of Phosphorus by the bowel.
Acta physiol. scand. 3, 1, 1941/42.

22. Kleiber M., A. H. Smith, N. P. Ralston, A. L. Black: Radiophosphorus (P^{32}) as tracer for measuring endogenous Phosphorus in cow's feces.
J. Nutr. 45, 253, 1951.

23. Lantsch H. J.: Untersuchungen über die P-Absorption und P-Exkretion an graviden und laktierenden Sauen unter Verwendung des Radioisotops P^{32}.
Diss. sc. agr. Göttingen 1961.

24. Lantsch H. J., J. O. Gütte, S. Molnár, H. Perl, W. Lenkeit: Beitrag zur Bestimmung des endogenen Kot-P nach Untersuchungen an ausgewachsenen Schweinen.
Zeitschrift für Tierphysiologie, Tierernährung und Futtermittelkunde 18, 305, 1963.

25. Lofgreen G. P., M. Kleiber, A. H. Smith: The digestion and absorption of P^{32}-labeled Casein by the young calf.
J. Nutr. 43, 401, 1951.

26. Lofgreen G. P., M. Kleiber, A. H. Smith: The excretion of injected P^{32} into the gastrointestinal tract of the young calf.
J. Nutr. 47, 561, 1952.

27. Lofgreen G. P., M. Kleiber, J. H. Luick: The metabolic fecal Phosphorus excretion of the young calf.
J. Nutr. 47, 571, 1952.

28. Lofgreen G. P., Kleiber M.: The availability of the Phosphorus in alfalfa hay.
J. Anim. Sci. 12, 366, 1953.

29. Lofgreen G. P., M. Kleiber: Further studies on the availability of Phosphorus in alfalfa hay.
J. Anim. Sci. 13, 258, 1954.

30. Lofgreen G. P.: The availability of the Phosphorus in dicalcium phosphate, bonemeal, soft phosphate and calciumphytate for mature wethers.
J. Nutr. 70, 58, 1960.

31. Lörcher K.: Zur Resorption und Ausscheidung des Phosphors beim Tier.
Diss. med. vet., München 1958.

32. Lörcher K.: Weitere Ergebnisse über die Resorptionsbestimmung von Phosphaten mit Hilfe der dynamischen Isotopenverdünnungsmethode.
1. Symposium Radioaktivität und Strahlenbiologie im Rahmen der Veterinärmedizin.
Verlag Paul Parey, Berlin 1965.

33. Lörcher K., K. Bronsch, C. Conrad: Die Phosphorresorption beim Schaf nach Verfütterung einer mit verschiedenen Phosphaten supplementierten Standardration.
Zeitschrift für Tierphysiologie, Tierernährung und Futtermittelkunde 20, 234, 1965.

34. Lueker C. E., G. P. Lofgreen: Effects of intake and Calcium to Phosphorus ratio on absorption of these elements by sheep.
J. Nutr. 74, 233, 1961.

35. Motzok J., D. Arthur, H. D. Branion: Utilization of Phosphorus from various phosphate supplements by chicks.
Poul. Sci. 35, 627, 1956.

36. Nicolaysen R.: The influence of Vit. D on the fecal output of Calcium and Phosphorus in the rat.
Biochm. J. 31, 107, 1937.

37. Niesar K-H.: Persönliche Mitteilung.

38. Otto E.: Biometrie
Deutscher Bauernverlag, Berlin 1958.

39. Plumlee M. P., C. E. Jordan, M. H. Kennington, W. M. Beeson: Availability of the Phosphorus from various phosphate materials for swine.
J. Anim. Sci. 17, 73, 1958.

40. Seuss H.: Bestimmung der Phosphorresorption aus Mineralfuttern an Jungrindern und Schafen nach der Isotopenverdünnungsmethode.
Diss. med. vet., München 1961.

41. Tillmann A. D., J. R. Brethour: Utilization of Phytin-Phosphorus by sheep.
J. Anim. Sci. 17, 104, 1958.

42. Wilson R. K., F. O. Cinnéide: A metabolism cage for wethers. Irish J. agr. research 1, 338, 1962.

43. Wise M. B., R. A. Wentworth, S. E. Smith: Availability of the Phosphorus in various sources for calves. J. Anim. Sci. 20, 329, 1961.

Herrn Prof. Dr. Dr. Dr. h. c. Brüggemann bin ich für die freundliche Überlassung des Themas und für die Gewährung der hervorragenden Arbeitsmöglichkeiten im Isotopenlabor seines Institutes zu großem Dank verpflichtet.

Meinem herzlichen Dank an Herrn Prof. Dr. Niesar † für die jederzeit gerne gewährte Unterstützung und Förderung meiner Arbeit kann ich nur noch durch ein ehrendes Gedenken Ausdruck verleihen.

LEBENSLAUF

Als Sohn des damaligen Oberzahlmeisters im Reichsheer Georg Ruß und seiner Ehefrau Margarete, geb. Kauppert, wurde ich am 15. Juni 1937 in Ingolstadt/Do. geboren. Nach Besuch von 5 Klassen Volksschule in Ingolstadt und Wachenroth (Ofr.) trat ich im September 1948 in die Oberrealschule Ingolstadt über, an der ich im Juli 1957 die Reifeprüfung ablegte.

Nach einsemestrigem Studium der Naturwissenschaften an der Universität München begann ich im Sommersemester 1958 an derselben Universität mit dem Studium der Veterinärmedizin, das ich nach einer zweijährigen Unterbrechung an der Universität Gießen fortsetzte und in München im Februar 1966 mit dem tierärztlichen Staatsexamen abschloß.

Zur Zeit arbeite ich als Assistenztierarzt in der Praxis des Herrn Dr. Gillig in Ingolstadt.